

CAROLINE EMÍLIA REIS MATSUBARA

**AUTOANTICORPOS NAS DOENÇAS HEPÁTICAS AUTOIMUNES: RELEVÂNCIA
NO DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E TRIAGEM DE CO-MORBIDADES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Shirley Ramos da Rosa Utiyama

Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Dominique Muzzillo

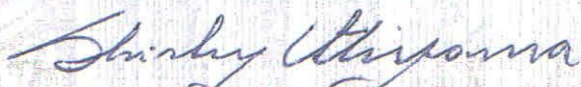
CURITIBA
2011

TERMO DE APROVAÇÃO

CAROLINE EMÍLIA REIS MATSUBARA

Título: Autoanticorpos nas doenças hepáticas autoimunes: relevância no diagnóstico, prognóstico e triagem de comorbidades

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Análises Clínicas.



Prof^a. Dr^a. Shirley Ramos da Rosa Utiyama
Orientadora



Prof^a. Dr^a. Thelma Larocca Skare
Faculdade Evangélica do Paraná



Prof^a. Dr^a. Karin Braun Prado
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 19 de abril de 2011.

Aos meus pais Genésio e Creuza pelo amor incondicional, entendimento e incentivo.

Ao Marcelo, meu esposo, pelo amor e companheirismo.

As minhas irmãs Daniela, Marcela e Ana Paula pela força e compreensão.

Todos juntos ajudaram transformar este trabalho em uma grande vitória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me ajudaram para a realização deste trabalho, direta e indiretamente, que me orientaram, incentivaram, aconselharam e cuidaram de mim durante todo este período;

À Deus que me manteve firme em todos os momentos;

À Prof^a. Dr^a. Shirley Ramos da Rosa Utiyama, minha orientadora, por toda sua dedicação, sabedoria, empenho, exigência e muita paciência, me ensinando cada dia mais. Obrigada por estar sempre ao meu lado, até o ultimo instante da finalização deste trabalho;

À Prof^a. Dr^a. Dominique Muzzillo, co-orientadora, pelo aprendizado, experiência trocada e permitida. Pela colaboração e oportunidade da coleta do material e convívio no dia a dia do ambulatório. E pelas sempre palavras de incentivo;

À Prof^a. Dr^a. Iara Tarboda de Messias-Reason, pelo carinho e acolhimento no laboratório e pelas constantes palavras de fé;

Ao Prof^o. Dr^o. Renato Nisihara, pelo apoio, incentivo e contribuição, principalmente no aprendizado das análises de todos os anticorpos;

A todos os pacientes que cederam amostra de seu sangue, para poder realizar todas as análises e obter esses resultados. Esperamos de alguma forma poder contribuir na qualidade de vida de todos;

Aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado, mesmo às vezes não entendendo, sempre acreditaram em mim e me impulsionavam para seguir adiante;

Ao meu esposo Marcelo que me apoiou, ajudou e me acalmou nos momentos difíceis, dando força pra continuar;

A minhas irmãs e cunhados que me entenderam e me apoiaram com muito amor e carinho;

Aos meus sogros, Augusto e Cristina, que me acolheram e estiveram comigo durante toda esta jornada;

A Liv Liv, minha cachorrinha, que sempre me fazia companhia e mesmo com cara de sono ficava comigo até altas horas da madrugada enquanto estudava;

A todos os funcionários do Laboratório de Imunopatologia e do Ambulatório de Hepatologia do Hospital de Clínicas da UFPR, que me ajudaram, ensinaram e também estiveram ao meu lado para a conclusão desta pesquisa;

Aos meus amigos que sempre estiveram comigo, me levantando nas dificuldades;

Aos meus amigos de mestrado, pelo aprendizado, convívio, união e principalmente pela amizade construída;

Ao Reuni, pela bolsa fornecida durante 11 meses, que proporcionou auxílio financeiro para execução do mestrado e desta dissertação;

A coordenação do programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas;

Obrigada por tudo!

RESUMO

A investigação e correta interpretação dos autoanticorpos é indispensável para o diagnóstico adequado de doenças autoimunes (DAI) do fígado. O diagnóstico precoce é fundamental para o correto tratamento e redução das consequências da doença. Pacientes com essas doenças apresentam alto risco de desenvolver outras DAI concomitantes. O presente estudo teve como objetivo realizar um amplo painel de autoanticorpos em pacientes com hepatopatias autoimunes e associar com dados clínicos, demográficos e presença de outras DAI. Foram analisadas amostras de soro de 60 pacientes com DAI hepática (43♀, 17♂; idade média 42,7 anos; 19-72 anos), sendo 23 com hepatite autoimune (HAI), 7 com cirrose biliar primária (CBP), 15 com colangite esclerosante primária (CEP) e 15 com síndrome de sobreposição (SSP). Grupo controle: 100 indivíduos sadios da mesma área geográfica. Foram avaliados os anticorpos relacionados ao diagnóstico das DAI hepáticas: anti-músculo liso (AML), anti-mitocôndria (AMA), anti-microsoma de fígado e rim (LKM), anti-nuclear (FAN) e anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA); anticorpos relacionados ao prognóstico: anticorpos anti-glicoproteína 210 (gp210) e anti-centrômero; e anticorpos relacionados às co-morbidades: anti-endomísio (EmA-IgA), anti-célula gástrica parietal (CGP), anti-transglutaminase (tTG), anti-peptídeo cíclico citrulinado (CCP), fator reumatóide (FR), anti-dsDNA (dsDNA), anti-cromatina, perfil ENA/confirmatórios. Estes foram investigados por imunofluorescência indireta, ensaio de imunoadsorção ligado à enzima (ELISA) e/ou aglutinação em látex, utilizando substratos adequados e kits específicos para cada reação. Os resultados mostraram aumento significativo na positividade total (86,7%) e específica de cada anticorpo relacionado ao diagnóstico nos pacientes em relação ao grupo controle (0%; $p < 0,001$). Foram detectados autoanticorpos em 78,3% dos casos de HAI, 93,3% de CEP, 71,4% de CBP e em 100% nos de SSP. A positividade dos anticorpos não diferiu em relação ao sexo, faixa etária e idade de diagnóstico dos pacientes. Foi detectado aumento significativo na faixa de 0-2 anos de duração de doença ($p = 0,039$). A significativa correlação entre AMA e FAN HEP-2 padrão citoplasmático pontilhado reticulado ($R = 0,636$; $p < 0,001$) foi dado pioneiro nesta população e caracterizou real contribuição no diagnóstico de CBP e SSP (HAI/CBP). A positividade de 52,2% do p-ANCA atípico na HAI e 73,3% na SSP ressalta seu valor diagnóstico na HAI, mesmo na ausência de AML. A associação clínico-laboratorial destacou a necessidade de realizar o painel completo de autoanticorpos e a análise conjunta dos dados para correto diagnóstico das hepatopatias. A confirmação histopatológica de SSP em 6 pacientes corrobora o papel dos biomarcadores. Frequência elevada de anticorpos relacionados às co-morbidade órgão específicas e/ou sistêmicas nos pacientes em relação aos controles ($p < 0,001$), independente do sexo, faixa etária, idade ao diagnóstico e duração da doença mostrou a importância de investigar outras DAI concomitantes, inclusive na ausência de sintomas. A associação clínico-laboratorial através da análise dos biomarcadores relacionados às co-morbidades sugeriu outra DAI em 18 pacientes. Em cinco pacientes obteve-se confirmação do diagnóstico prévio. Concluindo, os resultados ressaltam o papel dos autoanticorpos nos pacientes com DAI do fígado como marcadores precoces da doença, bem como ferramenta de diagnóstico para associação com co-morbidades. O alto índice de SSP e autoanticorpos relacionados à outras DAI nos pacientes com hepatopatias autoimunes do sul do Brasil sugere forte influência genética e de fatores ambientais no desenvolvimento das mesmas.

Palavras-chave: doença autoimune do fígado, hepatite autoimune, cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária, síndrome da sobreposição, auto-anticorpos.

ABSTRACT

Research and correct interpretation of autoantibodies is essential for the appropriate diagnosis of autoimmune liver diseases (ALD). Early diagnosis is crucial to the correct treatment and reduction of disease consequences. Patients with such diseases have a high risk of developing other concomitant autoimmune disease (AD). The present study aimed to evaluate a broad spectrum of autoantibodies in patients with ALD, and associate with clinical and demographic data of the disease and presence of other concomitant AD. Serum samples of 60 ALD patients (43♀, 17♂, mean age 42,7 years, 19-72 years) were evaluated: 23 with autoimmune hepatitis (AIH), 7 with primary biliary cirrhosis (PBC), 15 with primary sclerosing cholangitis (PSC) and 15 with overlap syndrome (OLS). Control group: 100 healthy individuals from the same region. Antibodies related to the diagnosis of ALD were evaluated: smooth muscle antibody (SMA), antimitochondrial (AMA), liver kidney microsomal (anti-LKM), anti-nuclear (ANA) and anti-neutrophil cytoplasmatic (ANCA). Antibodies related with prognosis: glycoprotein 210 antibody (gp210) and anti-centromere; and antibodies related with comorbidity: anti-endomysial (IgA-EmA) antibody, anti-parietal cell (PCA), anti-tissue transglutaminase antibodies (anti-tTG), anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP), rheumatoid factor (RF), anti-dsDNA (dsDNA), anti-chromatin and ENA/confirmatory. These autoantibodies were investigated by indirect immunofluorescence, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and latex agglutination, using appropriate substrates and specific kits for each reaction. The results showed a significant increase in total (86.7%) and specific positivity of each antibody related to the diagnosis of patients in relation to the control group (0%, $p < 0.001$). Autoantibodies were detected in 78,3% of AIH cases, 93,3% of PSC, 71,4 of PBC and 100% of OLS. The positivity did not differ regarding gender, age and age at the diagnosis of patients. A significant increase in the range of 0-2 years of duration of illness was detected ($p = 0,039$). The significant correlation between AMA and ANA HEp-2 reticulated speckled cytoplasmic pattern ($R = 0,636$; $p < 0,001$) was pioneer in this population and featured real contribution to the diagnosis of PBC and OLS (AIH/PBC). The positivity of 52,2% of atypical p-ANCA in AIH and 73,3% in OLS emphasizes its diagnostic value in AIH, even in the absence of SMA. The clinical and laboratory association highlighted the need to evaluate a full panel of antibodies and simultaneous analysis of data for correct diagnosis of liver diseases. The histopathologic confirmation of OLS in 6 patients corroborates the role of biomarkers. Higher frequency of antibodies related to organ-specific and/or systemic comorbidities in patients than controls ($p < 0,001$), regardless of sex, age, age at diagnosis and duration of disease showed the value of investigating other concomitant AD, even in the absence of symptoms. The clinical and laboratory association by analysis of biomarkers related to comorbidities suggested other AD in 18 patients. Confirmation of a previous diagnosis in five patients was obtained. In conclusion, the results emphasize the role of antibodies in patients with ALD as early markers of disease, as well as a diagnostic tool for association with comorbidities. The high rate of OLS and antibodies related to other AD in patients with ALD in southern Brazil suggest a strong genetic influence and environmental factors in their development.

Key-words: autoimmune liver disease, autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, overlap syndrome, autoantibodies.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FÍGADO E DUCTOS BILIARES.....	24
FIGURA 2 – FATORES ENVOLVIDOS NAS DAI DO FÍGADO	25
FIGURA 3 – XANTOMAS DE PELE.....	28
FIGURA 4 – CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DA CIRROSE BILIAR PRIMÁRIA.....	30
FIGURA 5 – JAN GÖSTA WALDENSTRÖM	31
FIGURA 6 – ICTERÍCIA E ASCITE EM PACIENTE COM HEPATITE AUTOIMUNE	32
FIGURA 7 – CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA HEPATITE AUTOIMUNE..	33
FIGURA 8 – COLANGITE ESCLEROSANTE PRIMÁRIA.....	37
FIGURA 9 – ASPECTO HISTOPATOLÓGICO DE COLANGITE ESCLEROSANTE PRIMÁRIA.....	39
FIGURA 10 – SOBREPOSIÇÃO DA HEPATITE AUTOIMUNE E OUTRAS HEPATOPATIAS.....	40
FIGURA 11 – ALGORÍTIMO DAS DOENÇAS HEPÁTICAS DE CAUSA INDEFINIDA	42
FIGURA 12 – ARTICULAÇÃO NA ARTRITE REUMATÓIDE	45
FIGURA 13 – FATOR REUMATÓIDE LIGADO À PORÇÃO Fc DE UMA MOLÉCULA IgG	47
FIGURA 14 – LESÕES DE PELE EM PACIENTE COM LES	47
FIGURA 15 – SÍNDROME DE SJÖGREN	49
FIGURA 16 – FENÔMENO DE RAYNAUD.....	51
FIGURA 17 – MUCOSA DUODENAL NORMAL E DOENTE NA DOENÇA CELÍACA	52
FIGURA 18 – IFI PARA O ANTICORPO AML.....	59
FIGURA 19 – IFI PARA O ANTICORPO AMA	60
FIGURA 20 – IFI PARA O ANTICORPO anti-LKM.....	60
FIGURA 21 – FAN-HEp-2: PADRÃO DE FLUORESCÊNCIA NUCLEAR TIPO MEMBRANA NUCLEAR	61
FIGURA 22 – FAN-HEp-2: PADRÃO DE FLUORESCÊNCIA NUCLEAR HOMOGÊNEO	61

FIGURA 23 – FAN-HEp-2: PADRÃO DE FLUORESCÊNCIA CITOPLASMÁTICO PONTILHADO RETICULADO	62
FIGURA 24 – PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA DO ANCA.....	63
FIGURA 25 – PLACA DE ELISA E LEITOR DE ELISA.....	65
FIGURA 26 – FAN-HEp-2: PADRÃO DE FLUORESCÊNCIA NUCLEAR PONTILHADO CENTROMÉRICO.....	65
FIGURA 27 – IFI PARA O ANTICORPO anti-CGP	66
FIGURA 28 – IFI PARA O ANTICORPO EmA-IgA.....	68
FIGURA 29 – IFI PARA O ANTI-dsDNA	70
FIGURA 30 – REAÇÃO DE LÁTEX PARA O FR	73

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1 – DIAGNÓSTICO DA CIRROSE BILIAR PRIMÁRIA.....	28
QUADRO 2 – ESCORE REVISADO PARA O DIAGNÓSTICO DE HAI (ERDHAI)...	35
QUADRO 3 – AUTOANTICORPOS E RESPECTIVOS SUBSTRATOS ANTIGÊNICOS DAS REAÇÕES DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA	58
QUADRO 4 – COMPARAÇÃO DOS TÍTULOS DOS ANTICORPOS AMA E FAN CITOPLASMÁTICO NOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA	92
QUADRO 5 – PADRÕES FAN-HEP-2 NAS HEPATOPATIAS AUTOIMUNES.....	100

TABELA 1 – AUTOANTICORPOS EM ESTUDO E RELEVÂNCIA CLÍNICA PRINCIPAL	54
TABELA 2 – INTERPRETAÇÃO DO ANTI-GP210 DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS.....	64
TABELA 3 – INTERPRETAÇÃO DO ANTI-TTG DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS	68
TABELA 4 – INTERPRETAÇÃO DO ANTI-CROMATINA DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS.....	70
TABELA 5 – INTERPRETAÇÃO DO PERFIL ENA DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS.....	71
TABELA 6 – INTERPRETAÇÃO DO ANTI-CITRULINA DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS.....	72
TABELA 7 – DADOS DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA E CONTROLES.....	78
TABELA 8 – DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS DOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA	79

TABELA 9 – FREQUÊNCIA DOS AUTOANTICORPOS NAS HEPATOPATIAS AUTOIMUNES	94
TABELA 10 – DADOS DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES POSITIVOS PARA ANTICORPOS NAS HEPATOPATIAS AUTOIMUNES.....	95
TABELA 11 – COMPARAÇÃO DOS ANTICORPOS ANTES E APÓS O TRATAMENTO	96
TABELA 12 – ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NAS DAI HEPÁTICAS: PACIENTES SOB REAVALIAÇÃO CLÍNICO/HISTOPATOLÓGICA.....	101
TABELA 13 – DADOS DOS PACIENTES POSITIVOS PARA ANTI-GP 210 E ANTI-CENTRÔMERO	109
TABELA 14 – AUTOANTICORPOS RELACIONADOS ÀS CO-MORBIDADES NAS DAI DO FÍGADO	122
TABELA 15 – ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DOS MARCADORES SOROLÓGICOS PARA DAI SISTÊMICAS.....	127
TABELA 16 – CO-MORBIDADES PRÉVIAS NOS PACIENTES COM DAI DO FÍGADO	129
TABELA 17 – DISTRIBUIÇÃO DAS CO-MORBIDADES PRÉVIAS E CO-MORBIDADES SUGERIDAS NOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICAS.....	130

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA DE ACORDO COM O SEXO	76
GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM AS FAIXAS ETÁRIAS.....	76
GRÁFICO 3 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI HEPÁTICAS NOS PACIENTES	77
GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI HEPÁTICAS EM RELAÇÃO AO SEXO DOS PACIENTES.....	77
GRÁFICO 5 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI HEPÁTICAS EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA.....	79
GRÁFICO 6 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI HEPÁTICAS EM RELAÇÃO À DURAÇÃO DA DOENÇA.....	80
GRÁFICO 7 – POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTOANTICORPOS NAS DAI HEPÁTICAS.....	82
GRÁFICO 8 – POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTOANTICORPOS EM CADA DAI HEPÁTICA	82
GRÁFICO 9 – POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS DE ACORDO COM O SEXO DOS PACIENTES	84
GRÁFICO 10 – HISTOGRAMA DE DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DOS AUTOANTICORPOS EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA	85
GRÁFICO 11 – POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA (A) E COM A IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA (B) .	86
GRÁFICO 12 – POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS DE ACORDO COM A DURAÇÃO DA DOENÇA.....	86
GRÁFICO 13 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS AML, AMA, LKM, FAN e ANCA EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA E CONTROLES.....	89
GRÁFICO 14 – DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTICORPOS EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICAS E CONTROLES.....	89
GRÁFICO 15 – FREQUÊNCIA DOS PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA DO FAN-HEP-2 NOS PACIENTES	91

GRÁFICO 16 – CORRELAÇÃO ENTRE O AMA E FAN CITOPLASMÁTICO PONTILHADO RETICULADO EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA.....	92
GRÁFICO 17 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS NA HAI.....	97
GRÁFICO 18 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS NA CBP	102
GRÁFICO 19 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS NA CEP	104
GRÁFICO 20 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS NA SSP.....	106
GRÁFICO 21 – POSITIVIDADE DE AUTOANTICORPOS RELACIONADOS ÀS CO- MORBIDADES.....	111
GRÁFICO 22 – POSITIVIDADE DE AUTOANTICORPOS RELACIONADOS ÀS CO- MORBIDADES NAS DAI HEPÁTICAS	112
GRÁFICO 23 – HISTOGRAMA PARA FAIXA ETÁRIA, IDADE AO DIAGNÓSTICO E TEMPO DE DURAÇÃO DE DOENÇA	114
GRÁFICO 24 – POSITIVIDADE DO EMA-IGA E ANTI-TTG EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA.....	116
GRÁFICO 25 – SINTOMAS RELACIONADOS À DOENÇA CELÍACA NOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA.....	117
GRÁFICO 26 – POSITIVIDADE DO FAN, ANTI-CROMATINA, ANTI-DSDNA E PERFIL ENA EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA	120
GRÁFICO 27 – POSITIVIDADE DO PERFIL ENA EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA.....	121
GRÁFICO 28 – POSITIVIDADE DO ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA.....	124

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	- Síndrome da imunodeficiência humana
ALT	- Alanina aminotranferase
AMA	- Anticorpo anti-mitocôndria
AML	- Anticorpo músculo liso
ANA	- Anticorpo anti-nuclear
ANCA	- Anticorpo anti-citoplasma de neutrófilo
anti-CCP	- Anticorpo anti peptídeo cíclico citrulinado
anti-CGP	- Anticorpo anti célula gástrica parietal
anti-dsDNA	- Anticorpo anti-dsDNA
anti-HAV	- Anticorpo anti vírus da hepatite A
anti-HCV	- Anticorpo anti vírus da hepatite C
anti-LC1	- Anticorpo anti citosol
anti-LKM	- Anticorpo anti-microsoma de fígado e rim
anti-SLA	- Anti-antígeno hepático solúvel
anti-tTG	- Anticorpo anti-transglutaminase
AP	- Anemia perniciosa
AR	- Artrite Reumatóide
AST	- Aspartato aminotransferase
CBP	- Cirrose biliar primária
CEP	- Colangite esclerosante primária
DAI	- Doença auto-imune
DAIT	- Doença tireoidiana autoimune
DC	- Doença celíaca
DMTC	- Doença mista do tecido conjuntivo
EDA	- Endoscopia digestiva alta
EMA-IgA	- Anticorpo anti endomísio
FAN	- Fator anti-nuclear
FR	- Fator reumatóide
GAC	- Gastrite atrófica de corpo
GP 210	- Anticorpo anti-glicoproteína 210
HAI	- Hepatite autoimune

HC-UFPR	- Hospital de Clínicas Universidade Federal do Paraná
HEp-2	- Células HEp-2
IFI	- Imunofluorescência indireta
LES	- Lúpus eritematoso sistêmico
MHC	- Complexo principal de histocompatibilidade
p-ANCA	- Anticorpo perinuclear antineutrofílico citoplasmático
p-ANCA at	- Anticorpo perinuclear antineutrofílico citoplasmático atípico
p-ANNA	- Anticorpo perinuclear anti-neutrofílico nuclear
Perfil ENA	- Anti-antígenos nucleares extraíveis
RCU	- Retocolite aulcerativa
SP 100	- Anticorpo anti-sp 100
SS	- Síndrome de Sjögren
SSP	- Síndrome de sobreposição
TMB	- Cromógeno tetrametilbenzidina
UDCA	- Ácido ursodeoxicólico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS.....	22
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3 REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1 O FÍGADO.....	23
3.2 AS DOENÇAS AUTOIMUNES DO FÍGADO	25
3.2.1 Cirrose Biliar Primária	26
3.2.2 Hepatite Autoimune.....	31
3.2.3 Colangite Esclerosante Primária	37
3.2.4 Síndrome de Sobreposição	40
3.3 MARCADORES DE PROGNÓSTICO NAS DOENÇAS HEPÁTICAS AUTOIMUNES	42
3.4 CO-MORBIDADES ASSOCIADAS ÀS DOENÇAS AUTOIMUNES DO FÍGADO	44
3.4.1 Doenças autoimunes sistêmicas e autoanticorpos nas DAI do fígado	44
3.4.1.1 Artrite reumatóide.....	45
3.4.1.2 Lúpus eritematoso sistêmico	47
3.4.1.3 Outras doenças do colágeno	49
3.4.2 Doenças autoimunes órgão específicas e autoanticorpos nas DAI do fígado	51
3.4.2.1 Doença celíaca.....	51
3.4.2.2 Gastrite atrófica e anemia perniciosa	53
4 MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA.....	55
4.2 CASUÍSTICA.....	55
4.2.1 Pacientes com Doença Hepática Autoimune	55
4.2.2 Grupo controle	56
4.3 METODOLOGIA.....	56
4.3.1 Coleta de sangue	56
4.3.2 Pesquisa de autoanticorpos	57

4.3.3 Pesquisa de autoanticorpos relacionados ao diagnóstico das DAI hepáticas.....	57
4.3.3.1 Pesquisa dos anticorpos AML, AMA e anti-LKM.....	57
4.3.3.2 Pesquisa do anticorpo anti-nuclear (FAN).....	60
4.3.3.3 Pesquisa de anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA)	62
4.3.4 Pesquisa de autoanticorpos relacionados ao prognóstico das DAI hepáticas.....	63
4.3.4.1 Pesquisa do anticorpo anti-glicoproteína 210 (anti-GP 210).....	63
4.3.4.2 Pesquisa do anticorpo anti-centrômero.....	65
4.3.5 Pesquisa de autoanticorpos relacionados às co-morbidades nas DAI hepática.....	66
4.3.5.1 Pesquisa de autoanticorpos órgão específico.....	66
4.3.5.1.1 Pesquisa do anticorpo anti-célula gástrica parietal (anti-CGP)	66
4.3.5.1.2 Pesquisa de anticorpos anti-endomísio (EmA-IgA).....	67
4.3.5.1.3 Pesquisa do anticorpo anti-transglutaminase (anti-tTG)	68
4.3.5.2 Pesquisa de autoanticorpos sistêmicos	69
4.3.5.2.1 Pesquisa do FAN e do anticorpo anti-dsDNA	69
4.3.5.2.2 Pesquisa do anticorpo anti-cromatina	70
4.3.5.2.3 Pesquisa dos anticorpos anti-antígenos nucleares extraíveis (Perfil ENA).....	71
4.3.5.2.4 Teste confirmatório dos anticorpos anti Sm, RNP, SS-A/Ro, SS-B/La.....	72
4.3.5.2.5 Pesquisa do anticorpo anti-citrulina (anti-CCP).....	72
4.3.5.2.6 Pesquisa do Fator Reumatóide (FR).....	73
4.3.6 Correlação clínico-laboratorial.....	73
4.3.7 Análise dos dados.....	74
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE PACIENTES EM ESTUDO.....	75
5.2 AUTOANTICORPOS RELACIONADOS AO DIAGNÓSTICO DAS DAI HEPÁTICAS.....	81
5.2.1 Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com DAI hepática.....	81
5.2.1.1 Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com DAI hepática em relação ao sexo.....	83
5.2.1.2 Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com DAI hepática em relação à idade e ao tempo de duração da doença	84

5.2.1.3 Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com DAI hepática em relação ao etilismo e tabagismo	87
5.2.2 Positividade dos autoanticorpos AML, AMA, anti-LKM, FAN e ANCA em pacientes com DAI hepática.....	88
5.2.3.1 Autoanticorpos na HAI: associação clínico-laboratorial.....	96
5.2.3.2 Autoanticorpos na CBP: associação clínico-laboratorial	101
5.2.3.3 Autoanticorpos na CEP: associação clínico-laboratorial	104
5.2.3.4 Autoanticorpos na SSP: associação clínico-laboratorial	105
5.3 POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS RELACIONADOS AO PROGNÓSTICO NAS DAI HEPÁTICAS.....	108
5.4 POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS RELACIONADOS ÀS CO-MORBIDADES NAS DAI HEPÁTICAS.....	110
5.4.1 Positividade total dos autoanticorpos relacionados às co-morbidades em relação ao sexo, idade e duração da doença.....	113
5.4.2 Positividade dos autoanticorpos órgão específicos.....	115
5.4.2.1 Positividade do EmA-IgA e anti-tTG em pacientes com DAI hepática ..	116
5.4.2.2 Positividade do anticorpo anti-CGP em pacientes com DAI hepática ..	118
5.4.3 Positividade dos autoanticorpos sistêmicos	119
5.4.3.1 Positividade do FAN, anti-cromatina, anti-dsDNA e perfil ENA em pacientes com DAI hepática.....	119
5.4.3.2 Positividade do anticorpo anti-CCP e do FR em pacientes com DAI hepática.....	123
5.4.3.3 Associação clínico-laboratorial.....	125
5.5 CO-MORBIDADES PREVIAMENTE DIAGNOSTICADAS NOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICAS.....	129
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	132
7 CONCLUSÕES	133
REFERÊNCIAS.....	136
LISTA DE APÊNDICES	152
LISTA DE ANEXOS.....	166

1 INTRODUÇÃO

As doenças autoimunes (DAI) apresentam distribuição mundial, afetam desde crianças a idosos e comprometem a qualidade de vida e a capacidade de trabalho dos indivíduos acometidos (JANEWAY et al., 2007). DAI tem etiopatogênese complexa e multifatorial que envolvem fatores genéticos, imunológicos, hormonais e ambientais em seu desenvolvimento, além das implicações do estresse físico e psicológico. Os fatores genéticos contribuem aproximadamente com 30 a 50% do risco de um indivíduo desenvolver tais doenças (JONES et al., 2003; HERSHKO; NAPARSTEK, 2006; STOJANOVICH; MARISAVLJEVICH, 2008; UTIYAMA, 2010).

A presença de mais de uma DAI em um mesmo indivíduo tem sido descrita na literatura, possivelmente devido a genes de susceptibilidade em comum atuando como fatores de risco. Tais associações freqüentemente estão relacionadas a maiores taxas de mortalidade, morbidade, baixa resposta à terapêutica e, na maioria das vezes, pior qualidade de vida do paciente (WANG et al, 2001; ANSALDI et al., 2003; BURNEVICZ; LOPATKINA, 2006; KOTZE et al., 2006; SELMI, 2007).

O diagnóstico das hepatopatias autoimunes envolve uma associação de dados clínicos, laboratoriais, radiográficos e/ou ecográficos, histopatológicos, entre outros, sendo fundamental a investigação de autoanticorpos para sua elucidação. Esses podem ser marcadores precoces da doença ou indicadores de prognóstico, além de permitir em algumas situações, o monitoramento dessas ou da resposta terapêutica (KUDO-TANAKA, 2007; NAKAMURA et al., 2007a).

Dentre as doenças hepáticas autoimunes destacam-se a cirrose biliar primária (CBP), a hepatite autoimune (HAI), a colangite esclerosante primária (CEP) e a síndrome de sobreposição (SSP) (KUMAGI, HEATHCOTE, 2008; HIRSCHFIELD et al., 2009).

A CBP é uma doença colestática crônica, imune mediada, caracterizada pela destruição dos pequenos ductos biliares intra-hepáticos, inflamação portal e fibrose. Esta destruição progressiva pode levar o fígado a prejuízo funcional, e conseqüente necessidade de transplante hepático (SELMÍ, 2009). Acomete com maior frequência mulheres com idade entre 40 a 60 anos.

Sua evolução é lenta e o diagnóstico precoce é essencial para dar início ao tratamento. Aproximadamente 85-90% dos pacientes apresentam o anticorpo anti-mitocôndria (AMA) na circulação (KUMAGI, HEATHCOTE, 2008). Este atua como

marcador da doença e aliado aos dados clínicos confirma o diagnóstico da CBP. Por sua vez, os anticorpos anti-glicoproteína 210 (anti-gp210) e anti-centrômero permitem avaliar a progressão da CBP, direcionando o prognóstico para insuficiência hepática ou hipertensão portal, respectivamente (GAO et al., 2008).

A HAI é doença autoimune crônica do fígado, com auto-agressão aos hepatócitos e conseqüente formação de autoanticorpos (GISH, MASON, 2001; STRASSBURG, 2010). Afeta predominantemente o sexo feminino, e a maior incidência da doença ocorre entre 10 a 25 anos e 40 a 70 anos de idade (CANÇADO, 1999; MIELI-VERGANI et al., 2009).

Os autoanticorpos constituem marcadores para a HAI, e contribuem efetivamente no diagnóstico, prognóstico e curso da doença. Dentre esses se incluem os anticorpos anti-músculo liso (AML), anti-nuclear (FAN), anti-microsoma de fígado e rim (anti-LKM 1) e anti-citosol (anti-LC1) (CZAJA et al., 2001; BOGDANOS, MIELI-VERGANI, VERGANI, 2009). Aliando dados clínicos e laboratoriais, foi criado um sistema de *score* (pontos) que favorece o diagnóstico da doença.

A CEP é doença colestática crônica do fígado caracterizada por inflamação e fibrose dos ductos biliares. Há evidências de ser uma doença autoimune, na qual ocorre formação de cicatrizes que obstruem os ductos (SILVEIRA, 2008). Caso este estreitamento seja intenso, o fluxo da bile fica reduzido, permitindo seu acúmulo, conhecido por colestase. Os ductos têm áreas de destruição seguidas de áreas de estenose. A colestase aumenta a inflamação das vias biliares e do fígado, que ao longo do tempo chega à cirrose.

A CEP acomete preferencialmente homens com idade entre 20 a 40 anos. Frequentemente há associação de CEP e retocolite ulcerativa (RCU) à presença do anticorpo anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA) (TERJUNG et al., 2000; ARON, BOWLUS, 2009).

Na SSP, tanto as vias biliares como os hepatócitos sofrem comprometimento autoimune. As doenças que participam deste grupo são a CBP, CEP, HAI e a colangite autoimune (RUST, 2008). O diagnóstico se torna mais complexo, e a orientação terapêutica varia de acordo com o órgão comprometido. A colestase é o denominador comum, sendo que aparece com mais frequência em algumas sobreposições. (FRICHE-PASSOS, MEDEIROS, 2001; RUST, BEUERS, 2008).

Testes para detecção dos autoanticorpos AML, FAN, AMA, anti-LKM1 e ANCA devem ser realizados em todos pacientes com doença hepática de etiologia desconhecida, independente do tempo de duração. A positividade dos anticorpos é tão importante quanto seus títulos, e o diagnóstico de uma DAI do fígado nunca deverá ser descartado com base nos baixos níveis de autoanticorpos (CZAJA et al., 2001).

A concomitância das doenças hepáticas autoimunes com outras DAI órgão específicas e/ou sistêmicas tem sido descrita ao longo dos últimos anos, variando dentre as diferentes populações. A presença de artrite reumatóide (AR), lúpus eritematoso sistêmico (LES), síndrome de Sjögren (SS), esclerodermia, doença celíaca (DC) e gastrite atrófica, entre outras, tem sido relatada nesses pacientes, caracterizando piora no prognóstico e na resposta terapêutica dos mesmos. As diferenças genéticas entre as populações possivelmente refletem na diversidade de co-morbidades associadas às doenças hepáticas autoimunes. A pesquisa de autoanticorpos representa um valioso instrumento na detecção precoce dessas afecções. (GOW et al., 2001; NAKAMURA et al., 2007b; GAO et al., 2008; KOGA et al., 2008; WIELOSZ et al., 2008).

Nesse contexto, o presente estudo visa realizar um amplo perfil de autoanticorpos em pacientes com doenças hepáticas autoimunes e estabelecer correlações clínico-laboratoriais. A ausência de relatos demonstrando conjuntamente o comportamento dos autoanticorpos relacionados ao diagnóstico, prognóstico e triagem de co-morbidades na população de pacientes do sul do Brasil justifica o estudo. Com relevância científica, social e institucional, a pesquisa poderá viabilizar o diagnóstico e tratamento precoces de doenças que, ao evoluir, acarretam custos imensos ao sistema de saúde para tratar suas complicações clínicas e muitas vezes cirúrgicas, como o transplante hepático.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Realizar um amplo perfil de autoanticorpos em pacientes com doenças hepáticas autoimunes, e associar os dados com aspectos clínicos da doença e presença de outras DAI.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a frequência dos autoanticorpos anti-músculo liso, anti-nuclear, anti-mitocôndria, anti-microsoma de fígado e rim e anti-citoplasma de neutrófilos em pacientes com doenças hepáticas autoimunes;
- Comparar a prevalência dos autoanticorpos citados em relação a indivíduos saudáveis da população geral;
- Associar os dados de autoanticorpos obtidos com parâmetros demográficos (sexo e idade) e aspectos clínicos dos indivíduos em estudo;
- Investigar a frequência dos autoanticorpos anti-glicoproteína 210 e anti-centrômero e associar os dados obtidos com o prognóstico da doença;
- Investigar a frequência dos autoanticorpos anti-citrulina, fator reumatóide, anti-dsDNA, anti-cromatina, anti-Sm, anti-RNP, anti-SSA/Ro, anti-SSB/La, anti-célula gástrica parietal, anti-endomísio e anti-transglutaminase em pacientes com DAI do fígado;
- Comparar a prevalência dos autoanticorpos relacionados às co-morbidades em relação a indivíduos saudáveis da população geral e associar os dados com parâmetros demográficos (sexo e idade) e clínicos dos indivíduos em estudo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

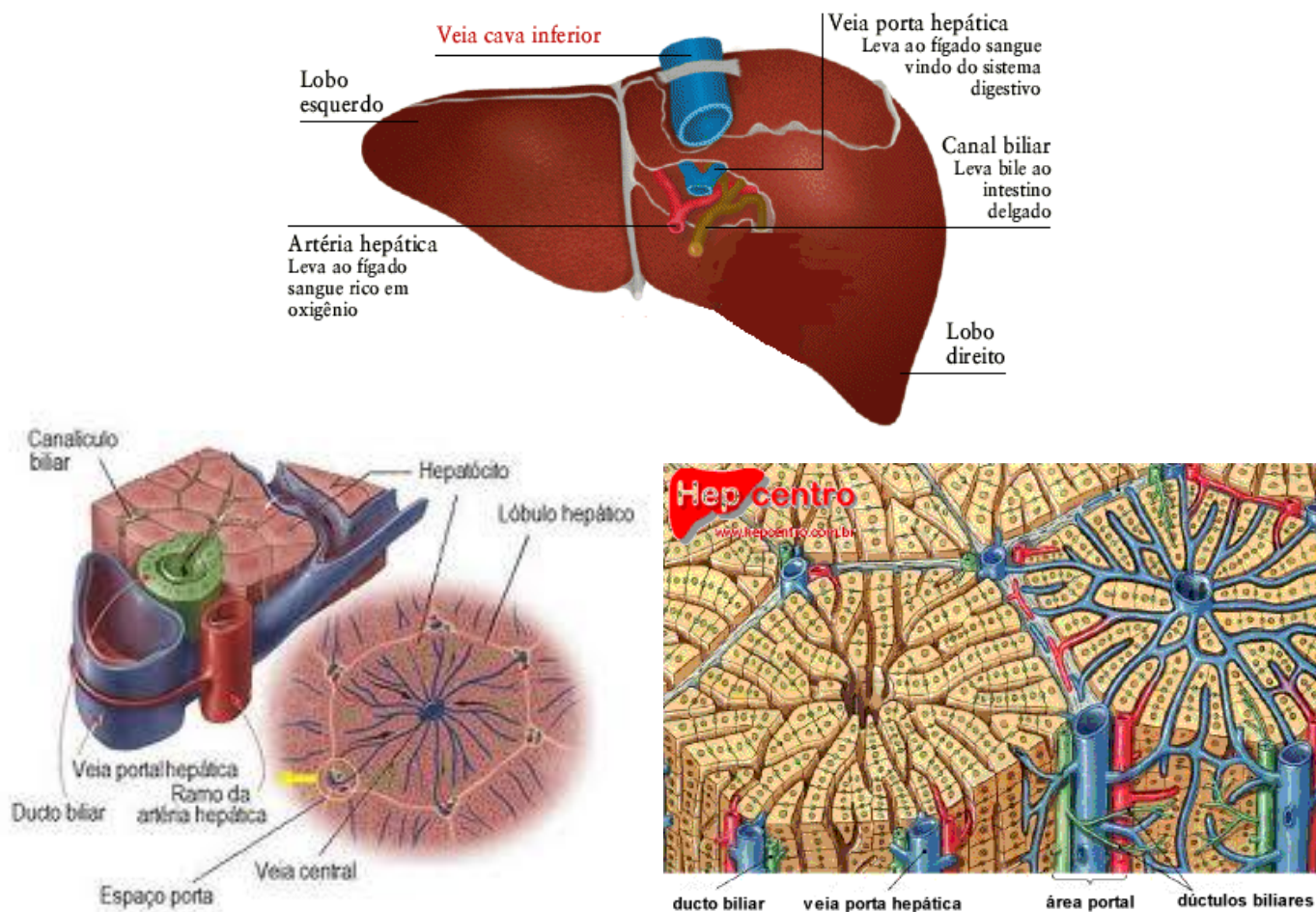
3.1 O FÍGADO

O fígado é o maior órgão do corpo humano, com peso aproximado de 1.500 g nos homens adultos e um pouco menos nas mulheres. De cor vermelho escuro, tendendo ao vinho, está situado na parte mais alta da cavidade abdominal, embaixo do diafragma no hipocôndrio direito. É constituído por aproximadamente 100 mil lóbulos, agregados celulares formados pelas células hepáticas. O fígado é formado por três superfícies: superior ou diafragmática, inferior ou visceral e posterior. A parte superior é dividida em dois lobos, o direito e o esquerdo. A parte inferior é plana, dividida por três sulcos, ganhando a forma de H. Na parte anterior do sulco direito esta a vesícula biliar, bolsa membranosa que armazena a bile (Figura 1). Uma cápsula resistente recobre o tecido hepático que é macio, diminuindo as possibilidades de lesões traumáticas. Caso ocorra ruptura desta, as consequências são graves, pois o tecido interno se rompe com grande facilidade. Se o paciente sobreviver à lesão, o fígado terá alto e rápido poder de regeneração (MIES, JÚNIOR, 2001).

O fígado possui várias funções, dentre elas a síntese de proteínas do plasma, do colesterol, destruição das hemácias, produção de precursores das plaquetas, emulsificação de gorduras no processo digestivo através da secreção da bile, armazenamento e liberação de glicose, conversão de amônia em uréia, purificação de diversas toxinas e detoxificação de muitas drogas (MIES, JÚNIOR, 2001).

Os primeiros transplantes de fígado foram realizados em 1956 por Cannon e em 1963 por STARZL et al. O progresso nos resultados do procedimento ocorreu com o aperfeiçoamento da técnica operatória, maior precisão das indicações e melhor compreensão dos mecanismos imunológicos envolvidos na rejeição do órgão transplantado. Sem terapia imunossupressora adequada os resultados do procedimento não eram bons e apresentavam baixos índices de sobrevida, próximos de apenas 20% em dois anos (CASTRO-E-SILVA et al., 2002).

FIGURA 1 – FÍGADO E DUCTOS BILIARES



FONTE: <http://www.hepcentro.com.br/cbp.htm>

Com o uso de soluções de preservação do órgão e melhoria dos esquemas de supressão, o transplante se tornou tratamento eficaz para as hepatopatias crônicas, com índice de sobrevida global em 3 anos de aproximadamente 80%. É a alternativa para casos graves cuja mortalidade com tratamentos conservadores é 70% ao final de 12 meses (CASTRO-E-SILVA et al., 2002).

De acordo com o Grupo de Transplante Hepático do Núcleo Avançado do Fígado do Hospital Sírio-Libanês, as doenças hepáticas com maior frequência de transplantes são: cirrose por hepatite crônica: vírus B ou C, doenças que comprometem as vias biliares, doença hepática alcoólica, hepatite autoimune (HAI), doença hepática gordurosa não alcoólica, doença metabólica na infância, tumores hepáticos primários e hepatites fulminantes (drogas e vírus).

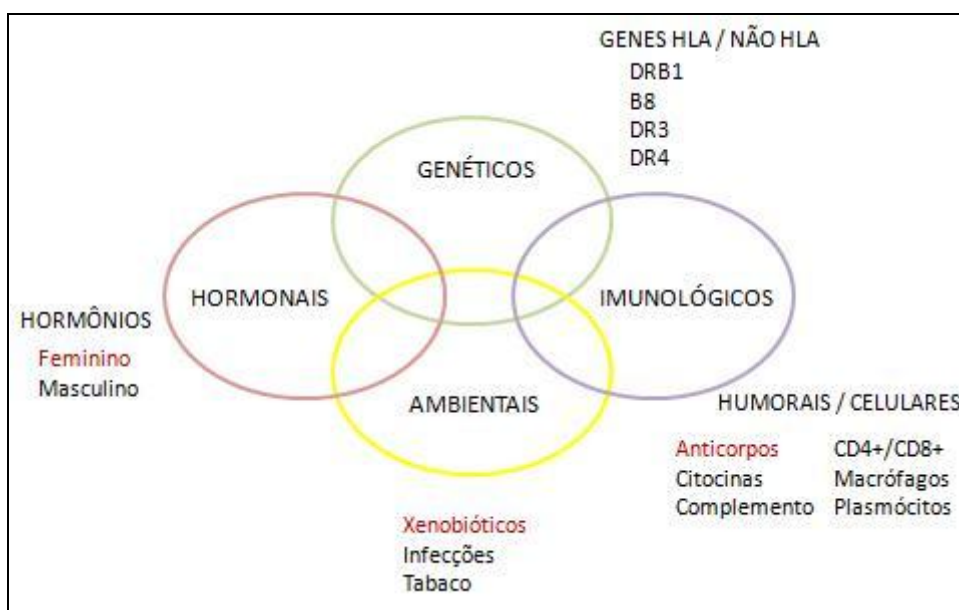
3.2 AS DOENÇAS AUTOIMUNES DO FÍGADO

As doenças hepáticas autoimunes foram as primeiras DAI a serem reconhecidas como entidade patogênica em humanos e posteriormente em animais nos laboratórios, durante os anos de 1950. No decorrer de cinco décadas, ampliou-se a compreensão clínica das DAI do fígado, o conhecimento da patogênese tornou-se mais refinado, o diagnóstico laboratorial mais preciso e a terapia mais efetiva (INVERNIZZI, MACKAY, 2008).

Dentre as DAI do fígado estão a HAI, a CBP, a CEP e a SSP. A natureza e a causa exata dessas DAI ainda não foram completamente explicadas, o que não surpreende, pois as DAI, inclusive as que afetam o fígado, resultam de intrincados distúrbios da função imunológica, aliados à fatores genéticos, ambientais e hormonais (Figura 2). Acredita-se que indivíduos suscetíveis devido à herança genética, idade e sexo, quando expostos a algum “gatilho” ambiental podem desenvolver a doença. Estes “gatilhos” podem ser vírus, bactérias e agentes xenobióticos, entre outros (LLEO et al, 2008; BÉLAND et al., 2009).

As DAI podem afetar indivíduos na infância, no adulto em sua fase mais produtiva da vida e mais tarde, na velhice. Acompanham os mesmos durante toda a vida e seus sintomas, complicações e efeitos colaterais da terapia, comprometem a maneira de viver desses pacientes (INVERNIZZI, MACKAY, 2008).

FIGURA 2 – FATORES ENVOLVIDOS NAS DAI DO FÍGADO



FONTE: O autor (2011)

3.2.1 Cirrose Biliar Primária

A CBP foi descrita inicialmente por ADDISON e GULL em 1851 e HANOT em 1876. É encontrada em todas as raças, com distribuição mundial distinta de acordo com a área geográfica. As maiores taxas de incidência e prevalência de CBP foram encontradas no Reino Unido, com 3,1 casos por 100.000 habitantes e 25,1 por 100.000 habitantes respectivamente. Nos Estados Unidos essas taxas são de 2,7/100.000 e 40,2/100.000 habitantes. Já na Austrália e no Canadá estas taxas são significativamente baixas, com 0,33/100.000 habitantes de incidência anual e prevalência de 1,9-2,2/100.000 habitantes (FELD, HEATHCOTE 2003). Tais dados são inexistentes na população brasileira.

A CBP caracteriza-se pela destruição imunologicamente mediada de pequenos e médios ductos biliares intra-hepáticos, inflamação portal e fibrose, que podem levar o fígado a prejuízo funcional, e conseqüente necessidade de transplante hepático (SELMÍ, 2009). Apresenta intenso predomínio no sexo feminino (90% dos casos), com idade entre 40 a 60 anos (SHERLOCK, 1991; LACERDA, BLOOMER 2001; SELMI, 2009).

Os anticorpos AMA circulantes contra a subunidade E2 do complexo piruvato desidrogenase (PDC-E2) constituem o marcador sorológico da CBP. A presença desses, bem como de células T e B auto reativas, em conjunto à ocorrência de outras DAI concomitantes nos pacientes, apontam para a etiologia autoimune da CBP (LLEO et al, 2008).

Dados sugerem forte predisposição genética na patogênese da CBP, aliada a fatores ambientais. Dentre as evidências genéticas destacam-se a alta concordância da doença entre gêmeos monozigóticos, a maior incidência entre familiares de primeiro grau e a alta prevalência no sexo feminino, possivelmente relacionado a um defeito no cromossomo X. Este aspecto baseia-se em observações que mulheres portadoras de CBP têm maior frequência de monossomia em X nos glóbulos brancos periféricos, comparado com mulheres saudáveis de mesma idade. Dentre as DAI, a CBP é controversa em relação à associação com alelos do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), localizados no braço curto do cromossomo 6 humano. O MHC representa um sistema genético altamente polimórfico, sendo genes HLA associados com aumento na predisposição para a CBP. Uma fraca

associação com o *HLA-DRB1*08* tem sido amplamente confirmada, com evidências de associação protetora do *HLA-DRB1*11* e **13* na CBP (LLEO et al, 2008).

De acordo com SELMI E GERSHWIN (2009), fatores de risco como exposição a agentes infecciosos e a xenobióticos químicos têm sido associados com a CBP, predominantemente por mecanismos de mimetismo molecular. Há evidências de que a *Novosphingobium aromaticivorans*, bactéria gram-negativa, é o melhor candidato microbiano para esta forma de indução da CBP.

Por sua vez, os agentes xenobióticos podem tanto alterar como formar complexos com proteínas próprias ou não-próprias, induzindo modificações na estrutura molecular de proteínas nativas, tornando-as imunogênicas. Essa resposta imune pode resultar no reconhecimento cruzado de estruturas próprias, perpetuando o processo e levando à autoimunidade crônica. Como a maioria dos xenobióticos são metabolizados no fígado, estes aumentam o potencial de alteração hepática das proteínas específicas. Atualmente dados demonstram que certos componentes xenobióticos/químicos podem induzir a produção do AMA, e são reconhecidos pelo soro de pacientes com CBP com maior afinidade comparado às proteínas próprias. Esses compostos também são encontrados nos produtos de uso comum como aromatizante de alimentos e cosméticos. Este envolvimento de cosméticos pode contribuir para a predisposição do sexo feminino em desenvolver CBP (LLEO et al, 2008). Tabagismo também pode ser fator de risco para a CBP e tem sido demonstrado que acelera a sua progressão (HOHENESTER et al., 2009).

Estudos recentes sugerem ainda que a apoptose de células epiteliais biliares represente um passo crítico na destruição ductular na CBP, possivelmente relacionado a mecanismos envolvendo maior expressão do auto-antígeno alvo principal PDC-E2 (SALUNGA et al., 2007).

Neste contexto, linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ autoreativos, assim como células B, encontram-se altamente implicados na patogênese da CBP e destruição dos canais biliares. Corroborando, a infiltração dessas células no fígado e espaços periductulares constitui uma das principais características da doença (VAN DE WATER et al., 1995).

Por ser uma doença de evolução lenta, o diagnóstico precoce da CBP é essencial para dar início ao tratamento, sendo usualmente realizado pelo conjunto de informações clínicas, bioquímicas, histopatológicas, sorológicas e de resposta ao tratamento (Quadro 1).

QUADRO 1 – DIAGNÓSTICO DA CIRROSE BILIAR PRIMÁRIA

Diagnóstico da Cirrose Biliar Primária		
Clinica	Mulher de meia-idade	90% dos pacientes
	Fadiga	60-70% dos pacientes
	Prurido	50-60% dos pacientes
	Hepatoesplenomegalia	
	Outras doenças autoimunes	
	Xantomas	
	Sinais de cirrose	
	Sem sintomas	30-40% dos pacientes
Bioquímica	Elevação de fosfatase alcalina	3 ou + vezes acima do normal
	Elevação de gama-glutamil-transpeptidase	
	Elevação do colesterol	80% dos pacientes
	Bilirrubina direta normal ou elevada	usualmente pouco aumentada
Sorologia	Anticorpo-antimitocôndria (título > 1:40)	90-95% dos pacientes*
	IgM elevado	95% dos pacientes
Radiologia	Colangiopancreatografia retrógrada endoscópica normal	geralmente é desnecessária
Histopatologia	Destrução granulomatosa de ductos biliares	
	Proliferação de ductulos biliares	
	Infiltração crônica por células inflamatórias	
	Fibrose com ou sem cirrose	

FONTE: adaptado de <http://www.hepcentro.com.br/cbp.htm>

A maioria dos pacientes com CBP não apresenta sintomas no início, porém são característicos pruridos e fadiga, seguidos de icterícia. Tardamente pode aparecer xantomas (depósitos de gordura sob a pele; Figura 3) e hiperpigmentação. Em casos mais avançado da doença ocorre esteatorréia e diminuição das vitaminas lipossolúveis, em especial a vitamina D. O distúrbio ósseo comumente visto é a osteoporose (LACERDA, BLOOMER 2001).

FIGURA 3 – XANTOMAS DE PELE



FONTE: <http://www.hepcentro.com.br/cbp.htm>

As alterações bioquímicas são detectadas através do aumento dos marcadores séricos da colestase como a fosfatase alcalina e a gama-glutamil transferase (HOHENESTER et al, 2009).

Aproximadamente 85-90% dos pacientes com CBP apresentam AMA no soro (KUMAGI, HEATHCOTE, 2008). Este é considerado o principal marcador da doença e possibilita o diagnóstico diferencial com outras colangites. A presença do AMA constitui um achado que corrobora o diagnóstico da CBP devido a sua elevada sensibilidade e especificidade (superiores a 90-95%) (FIKE, 1997b). Usualmente este é investigado no laboratório clínico por metodologia de imunofluorescência indireta.

Os auto-antígenos alvos dos AMA estão localizados na membrana mitocondrial interna, destacando-se a subunidade E2 do complexo piruvato dehidrogenase (BOGDANOS, 2008; LLEO et al., 2008). Diferentes antígenos são encontrados na membrana mitocondrial, tendo-se assim diferentes anticorpos AMA. A identificação dos diferentes tipos (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 e M9) é possível com o uso de antígenos recombinantes em ensaio imunoenzimático e permite um diagnóstico específico. A CBP está relacionada à M2, e o tipo M9 pode ser encontrado em familiares saudáveis (CALICH, 1979).

Pacientes que possuem AMA negativo com outros achados característicos de CBP são considerados portadores de colangite autoimune. Destes, 95% terão anticorpo anti-núcleo ou anti músculo liso, com evolução idêntica à da CBP.

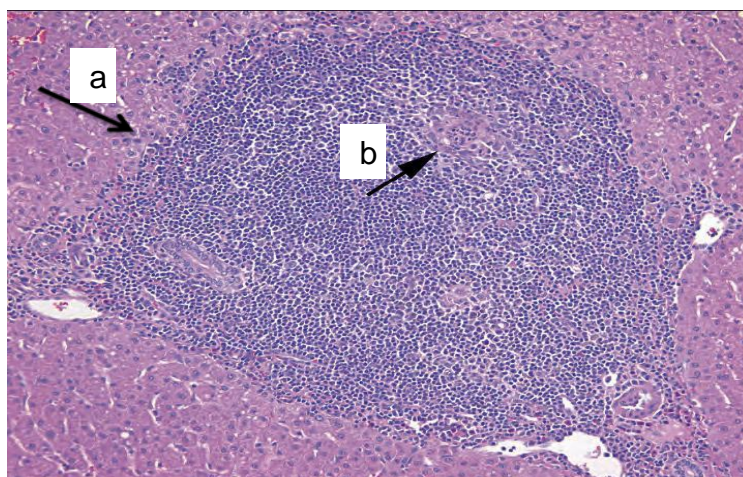
Não existe correlação direta entre os títulos de AMA e a gravidade da CBP (LLEO et al., 2008), porém anticorpos anti-nucleares doença-específicos, como o anticorpo anti-gp210, são encontrados em aproximadamente um terço dos pacientes com CBP, e representam risco para doença mais grave e progressiva, como será enfatizado no item 3.3 (INVERNIZZI et al., 2005).

De acordo com o III Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2 (FAN) (DELLAVANCE et al., 2003, 2009) e CHOU et al (1992), o padrão de fluorescência citoplasmático pontilhado reticulado sugere a presença do anticorpo anti-mitocôndria (anti-M2), que é marcador da CBP. Os autores enfatizam o valor da confirmação por teste específico diante desse padrão.

Até o momento, são inexistentes os estudos avaliando simultaneamente o AMA e o FAN-HEp-2 padrão citoplasmático pontilhado reticulado em pacientes com doenças hepáticas autoimunes do sul do Brasil.

Na histologia a lesão mais importante da CBP é o granuloma epitelióide. Já na fase inicial da doença esta é caracterizada por destruição de ductos biliares septais e interlobulares, circundados por denso infiltrado inflamatório de linfócitos, histiócitos e células epitelióides, plasmócitos e alguns eosinófilos. Agregados linfóides podem estar associados ou não (Figura 4). Também podem ser vistos granulomas sem necrose central (PIMENTEL, 2004). Geralmente os pacientes com muitos granulomas são precocemente identificados e tem um melhor prognóstico já que a destruição dos ductos biliares não é proeminente (SHERLOCK, 1991).

FIGURA 4 – CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DA CIRROSE BILIAR PRIMÁRIA



FONTE: MOLAVI DW (2008)

NOTA: a) Granuloma epitelióide; b) inflamação granulomatosa destruindo o ducto

A colestiramina é utilizada no tratamento dos sintomas na CBP, pois alivia o prurido. Por sua vez, o ácido ursodeoxicólico (UDCA) é o único medicamento aprovado pela FDA como tratamento da doença de base, e se administrado em doses adequadas leva a estimulação da secreção hepatobiliar que reduz a colestase e a desintoxicação da bile, e junto com a ação anti-apoptótica podem vir a ser a chave para esclarecer mecanismos ainda em discussão (HOHENESTER et al, 2009).

A CBP associa-se a outras doenças autoimunes. As mais freqüentes são as collagenoses como artrite reumatóide (AR), dermatomiosite, doença mista do tecido conjuntivo (DMTC) e LES. Em 4% dos casos pode estar associada à esclerodermia e a síndrome CREST. A síndrome de Sjögren (SS) e a tireoidite autoimune são encontradas com freqüência nesses pacientes. A doença de Graves já foi relatada

em pacientes com CBP (SHERLOCK, 1991). A associação com anemia perniciosa (AP) é de aproximadamente 1,8%, a atividade cruzada dos anticorpos deve-se a antígenos comuns do fígado e estômago. A avaliação de AP é sugerida nos pacientes com CBP que persistem com anemia (CHUNG et al, 2010).

O transplante hepático é a única medida que muda a história natural da doença em estágio avançado. A sobrevida é de 90% dos casos em 1 ano e de 70% em cinco anos. Recorrência de CBP ocorre com baixa frequência (LACERDA, BLOOMER 2001; CASTRO-E-SILVA et al., 2002).

3.2.2 Hepatite Autoimune

A HAI foi reconhecida em 1950 por Waldenström (Figura 5) em mulheres jovens (MACKAY, 2008). Possui prevalência de 3,3% entre as hepatopatias crônicas de acordo com o Inquérito Nacional sobre HAI apresentado em 2001 no XVI Congresso Brasileiro de Hepatologia. Sua incidência no Brasil ainda é desconhecida. A prevalência com base nas estatísticas internacionais realizadas na Europa setentrional é de 17 casos por 100.000 habitantes, com incidência anual de 1,9 casos (Portaria SCTIE nº 70, 2006).

FIGURA 5 – JAN GÖSTA WALDENSTRÖM



FONTE: MACKAY, 2008

A HAI é uma doença crônica do fígado, onde há auto-agressão dos hepatócitos, com conseqüente formação de autoanticorpos circulantes e níveis séricos elevados de gama globulinas (GISH, MASON, 2001; KRAWITT, 2006; TEUFEL et al, 2009). Afeta predominantemente o sexo feminino, na proporção de

8:1. As duas faixas etárias com maior incidência da doença são entre 10 a 25 anos, e entre 40 a 70 anos de idade (CANÇADO, 1999; MIELI-VERGANI et al., 2009).

Com mecanismo patogênico ainda desconhecido, a predisposição genética na HAI tem sido sugerida, tanto pelo predomínio da doença no sexo feminino como pela associação com antígenos HLA na predisposição para a HAI, principalmente o HLA-B8, DR3 e DR4 (TEUFEL et al, 2009).

Uma forte associação genética com o MHC decorre da restrição da resposta imune das células T dependentes, o que implica no mecanismo da etiologia da HAI mediado por células T. O mimetismo molecular entre antígenos estranhos e próprios pode explicar a perda da autotolerância e a autoimunidade em órgãos anatomicamente distantes (OO, HUBSCHER, ADAMS, 2010).

Fatores ambientais como agentes infecciosos e químicos podem estar implicados como agentes desencadeantes da HAI, ou seja, funcionando como gatilho no aparecimento da doença (STRASSBURG, 2010).

Os sintomas apresentados pelos pacientes com HAI não são específicos e têm gravidade variável. Caracterizam-se por fadiga, letargia, mal-estar, anorexia, náuseas, dor abdominal e prurido. É comum a artralgia de pequenas articulações. No exame físico o paciente pode não apresentar achados patológicos, assim como pode revelar hepatomegalia, esplenomegalia, icterícia e sinais e sintomas de doença hepática crônica (TEUFEL et al, 2009; Figura 6).

FIGURA 6 – ICTERÍCIA E ASCITE EM PACIENTE COM HEPATITE AUTOIMUNE

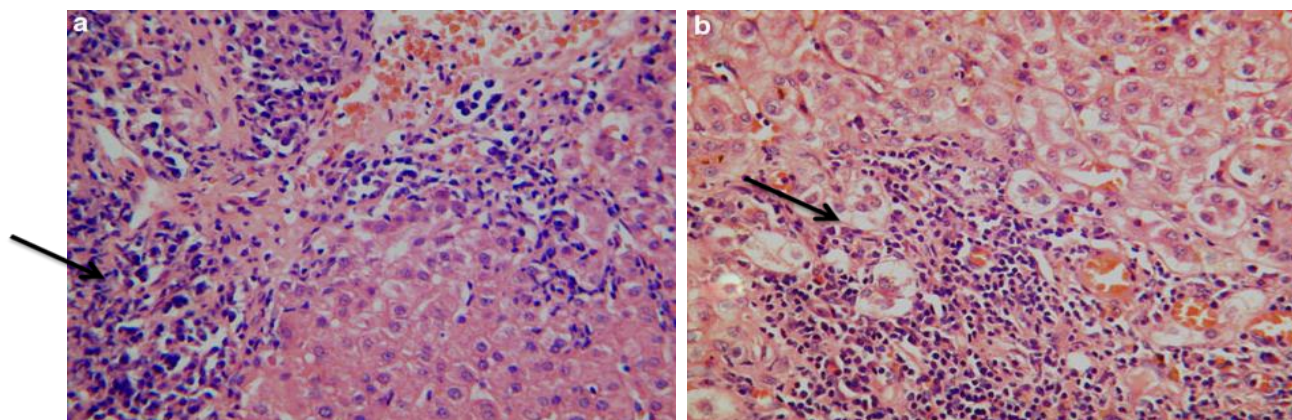


FONTE: http://drjcfonsecaeofigado.blogspot.com/2009_01_01_archive.html
<http://www.hepcentro.com.br/ascite.htm>

O início da doença pode ser semelhante à hepatite viral aguda, com icterícia, e em alguns casos com necrose hepática maciça e falência fulminante do fígado,

podendo ainda em alguns casos ser assintomática. A biópsia hepática é fundamental na elucidação da doença e é caracterizada por um infiltrado linfoplasmocitário, necrose em saca-bocado, e pela eventual presença de rosetas de hepatócitos circundados por células inflamatórias. A principal característica histopatológica da HAI é um denso infiltrado portal de células mononucleares que invadem o parênquima, compreendido pelos linfócitos T e B, macrófagos e plasmócitos (OO, HUBSCHER, ADAMS, 2010; Figura 7). Entre os parâmetros bioquímicos as transaminases freqüentemente encontram-se elevadas e as enzimas canaliculares levemente aumentadas, com ausência de atividade de marcadores virais. Ocorre hipergamaglobulinemia que reflete a atividade da doença. Em até 50% dos casos observa-se diminuição da albumina, causando edemas e ascite, piorados pela possível desnutrição do paciente (VERGANI, 2008; LUTH'S, 2009; OO et al., 2010).

FIGURA 7 – CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA HEPATITE AUTOIMUNE



FONTE: OO, HUBSCHER, ADAMS, 2010

NOTA: a. Infiltrado monomorfonuclear denso, rico em células plasmocitárias associado à hepatite de interface moderada; b. Hepatite de interface com balonização e rosetas de hepatócitos periportais;

Existe uma tendência de se abandonar a classificação que divide as HAIs em diferentes tipos, no entanto, ainda não há consenso. Pode-se então, subdividi-las em três grupos: HAI tipo 1, HAI tipo 2 e HAI tipo 3. O que permite diferenciá-las são os autoanticorpos presentes em cada grupo. Estes são marcadores da doença e auxiliam no diagnóstico, prognóstico e na avaliação da evolução. O AML é encontrado em 70% dos pacientes e caracteriza prognóstico mais grave. Este é considerado marcador para HAI tipo 1, juntamente com o FAN, que está presente em até 80% dos pacientes (MUZZILLO, FUKUDA, HAYAKAWA, 2001; BOGDANOS,

2008; GRANITO et al, 2009). Embora em menor prevalência que o FAN, o AML é mais específico, particularmente quando presente em títulos altos ($\geq 1:100$). A pesquisa do FAN por imunofluorescência, tendo células HEp-2 como substrato, mostra maior relação dos padrões homogêneo e tipo membrana nuclear com a HAI tipo I (CZAJA et al., 2001; DELLAVANCE et al., 2009).

O AML é um anticorpo direcionado contra estruturas do citoesqueleto, como microfilamentos (actina e vinculina), filamentos intermediários (vimentina e desmina) e microtúbulos (tubulina) presentes no tecido muscular liso constituinte da mucosa gástrica e da camada média vascular do fígado e rim murinos. A técnica de imunofluorescência indireta é considerada o principal método de detecção do AML por sua elevada sensibilidade, e utiliza como substrato cortes criostáticos de fígado, rim e estômago de rato. Os padrões de fluorescência peritubular e glomerular gerados a partir da reação com a actina filamentosa são específicos para a hepatite autoimune tipo I (GRANITO et al., 2006).

Por sua vez, na HAI tipo 2 são encontrados o anticorpo anti-LKM1 e anti-citosol tipo-1 (anti-LC1). A doença ocorre predominantemente em mulheres jovens e crianças, com quadro clínico em geral mais grave e de pior evolução. Observa-se redução nas concentrações deste anticorpo ou negatização em 50% dos pacientes com remissão da doença, e após a diminuição e retirada da imunossupressão ocorrem picos de necrose hepática juntamente com o aumento das concentrações de anticorpo. Este subgrupo se divide em tipo 2a e tipo 2b, de acordo com a presença ou não de infecção pelo HCV. Os anticorpos anti-LKM são dirigidos contra constituintes das partículas do retículo endoplasmático do fígado e rim, mais especificamente a proteína CYP-450 2D6 do sistema citocromo oxidase. Este está presente em mais de 90% dos pacientes com hepatite autoimune tipo II, porém pacientes com hepatite C também podem apresentar positividade para o mesmo anticorpo (MUZZILLO, FUKUDA, HAYAKAWA, 2001; BOGDANOS, 2008; GRANITO et al, 2009).

O principal anticorpo da HAI tipo 3 é o anti-antígeno hepático solúvel (anti-SLA). O AML pode estar presente, assim como o AMA, que apesar de ser marcador para a CBP, pode ocorrer em até 20% dos pacientes (FELD, HEATHCOTE 2003; MUZZILLO, FUKUDA, HAYAKAWA, 2001; BOGDANOS, 2008; GRANITO et al, 2009).

Para facilitar o diagnóstico dos casos complexos de HAI foi criado um sistema de *score* (pontos) (Quadro 2), onde as características da HAI ganham pontos e as outras causas os perdem. Através desse sistema de *score*, codificado por um consenso internacional, o diagnóstico da HAI é auxiliado de acordo com os pontos obtidos (ERDHAI). Pacientes sem tratamento com imunossupressores, com ERDHAI entre 10 a 15, tem diagnóstico provável de HAI. Acima de 15 pontos é definido como diagnóstico. Pacientes com uso de imunossupressor, com pontuação ERDHAI de 12 a 17, são ditos como provável diagnóstico de HAI e acima de 17 pontos como portadores da doença.

QUADRO 2 – ESCORE REVISADO PARA O DIAGNÓSTICO DE HAI (ERDHAI)

continua

Parâmetro	Escore	Notas Explicativas
Sexo feminino	+2	
Relação Fosfatase Alcalina/AST (ou ALT)		A
< 1,5	+2	
1,5-3,0	0	
>3,0	-2	
Gamaglobulina ou IgG (nº de vezes acima do normal)		
>2,0	+3	
1,5-2,0	+2	
1,0-1,5	+1	
<1,0	0	
FAN, AML ou anti-LKM1		B
>1:80	+3	
1:80	+2	
1:40	+1	
<1,40	0	
Anti-mitocôndria positivo	-4	
Marcadores de hepatites virais		C
Positivos	-3	
Negativos	+3	
Consumo de medicamentos hepatotóxicos atual ou recente		
Presente	-4	
Ausente	+1	
Consumo médio de álcool		
<25 g/dia	+2	
>60 g/dia	-2	
Histologia hepática:		
Infiltrado peri-portal com necrose em saca bocado	+3	
Infiltrado linfoplasmocitário predominante	+1	
Hepatócitos em roseta	+1	
Nenhum dos acima	-5	

Conclusão

Parâmetro	Escore	Notas Explicativas
Alterações biliares	-3	
Outras alterações	-3	
Outra doença autoimune (própria ou familiar de 1º grau)	+2	
Parâmetros opcionais:		
Positividade de outro anticorpo associado com HAI	+2	d,e
HLA DR3, DR4 ou DR13	+1	d,f
Resposta ao tratamento imunossupressor		G
Completa	+2	H
Recaída com a diminuição	+3	I

Notas:

- a. Calculado com número de vezes acima do limite superior da normalidade da FA dividido pelo número de vezes acima do limite superior da normalidade da AST.
- b. Títulos medidos por imunofluorescência indireta em tecidos de roedores ou para o FAN em células Hep-2. Títulos mais baixos em crianças podem ser significantes e devem pontuar pelo menos 1 ponto (especialmente de anti-LKM1).
- c. Considera-se como negativo resultado negativos de todos a seguir: anti-HAV IgM, HBsAg, anti-HBc IgM, anti-HCV e reação em cadeia da polimerase para HCV qualitativo. Se uma etiologia viral é suspeitada pode-se considerar necessária a exclusão do citomegalovírus e do vírus Epstein-Barr.
- d. Válidos para pontuação apenas se FAN, AML e anti-LKM1 negativos.
- e. Incluem anti-SLA/LP, p-ANCA, anti-ASGPR, anti-LC1 e anti-sulfatide.
- f. HLA DR13 incluído no escore original de acordo com resultados de estudo realizado em São Paulo.
- g. Se paciente ainda não foi tratado, desconsiderar e utilizar ponto de corte pré-tratamento (ver a seguir). Incluir a pontuação apropriada após início da terapia.
- h. Resposta completa (pelo menos 1 das seguintes situações):
 - 1- melhora importante dos sintomas associada a normalização da AST, ALT, bilirrubinas e gamaglobulinas no prazo de 1 ano do início do tratamento e mantido por 6 meses;
 - 2- melhora dos sintomas com melhora de 50% da AST, ALT e bilirrubinas no primeiro mês de tratamento e com AST e ALT permanecendo no máximo 2 vezes o limite superior da normalidade durante os primeiros seis meses da terapia de manutenção;
 - 3- biópsia durante este período mostrando no máximo atividade mínima.
- i. Recaída (uma das seguintes situações após resposta completa):
 - 1- aumento da AST ou ALT acima de 2x o limite superior da normalidade;
 - 2- biópsia hepática mostrando doença ativa;
 - 3- retorno de sintomas que necessitem aumento da imunossupressão acompanhado de aumento na AST ou ALT.

FONTE: PORTARIA SCTIE Nº 70 DE 06 DE NOVEMBRO DE 2006.

Corticóide isolado ou em associação com azatioprina é usado no tratamento da doença e permite remissão induzida em mais de 80% dos pacientes (CZAJA, 2002; MIELI-VERGANI et al, 2009). Pacientes com doença grave e que não receberam terapia imunossupressora nos primeiros seis meses podem ter mortalidade de até 40%. Pacientes com cirrose histológica respondem igualmente a terapia em relação aos que não possuem. A expectativa de vida também não sofre interferência (ROBERTS et al, 1996). Para pacientes descompensados, onde a terapia medicamentosa não tem mais o efeito necessário, o transplante de fígado é o tratamento de escolha (GRANITO et al., 2009), apesar da indicação ser

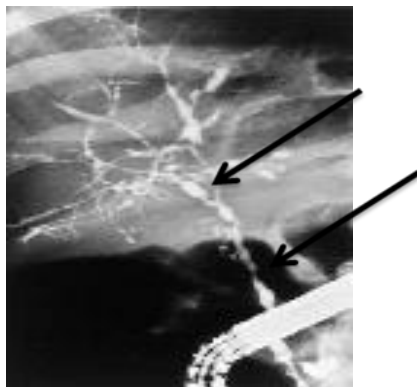
relativamente incomum e não ultrapassar 5% dos casos. Este apresenta sobrevida de 1 ano em aproximadamente 87% dos pacientes e de 5 anos em 80 a 90% dos casos (MOTTERSHEAD, 2008).

3.2.3 Colangite Esclerosante Primária

No Brasil a prevalência da CEP ainda é desconhecida. LINDKVIST et al (2010) relatam em um estudo com pacientes da Suécia a prevalência da CEP entre 1992 a 2005. No final de 2005 a prevalência foi de 16,2/100.000 habitantes (23,7/100.000 para homens e 8,9/100.000 para mulheres), com incidência anual de 1,22/100.000 habitantes.

A CEP consiste em uma doença colestática crônica do fígado caracterizada por inflamação e fibrose tanto intrahepática como extrahepática dos ductos biliares. Esta fibrose progressiva oblitera e afeta as estruturas dos ductos biliares, ocorrendo áreas de estenose e dilatação (Figura 8; CHAPMAM, CULLEN 2008; BJÖRNSSON, 2009). Embora de etiologia desconhecida, há evidências de ser uma doença autoimune devido aos seus mediadores e à infiltração linfocítica portal (CHAPMAM, CULLEN 2008; SILVEIRA, 2008). Colestase é o impedimento do fluxo do canal biliar independente do local onde ocorre o obstáculo ou a causa que a determina (SARON et al, 2009). Neste caso, é a fibrose que a ocasiona e faz com que aumente a inflamação das vias biliares e do fígado, que ao longo do tempo chega à cirrose e a falência hepática (CHAPMAM, CULLEN 2008). A doença pode ser de vias intra-hepáticas, quando ocorre colestase intra-hepatocítica.

FIGURA 8 – COLANGITE ESCLEROSANTE PRIMÁRIA



FONTE: CHAPMAM, CULLEN 2008

NOTA: Estenose: área de dilatação e estreitamento do canal biliar

A patogênese da CEP também é pouco conhecida. Está associada com os autoanticorpos e com haplótipos HLA. Infiltração linfocitária é presente em áreas com danos portais. Antígenos bacterianos podem fazer mimetismo molecular em indivíduos geneticamente suscetíveis e gerar uma resposta imunológica responsável pelo surgimento da CEP (CHAPMAN, CULLEN 2008).

Acomete preferencialmente homens, em uma proporção de 2:1, com idade entre 20 a 40 anos. A história natural da doença é bastante variável com tempo médio de diagnóstico até a morte ou transplante do fígado de 12 a 15 anos (ARON, 2009).

A colangite esclerosante aparece em duas variantes: colangite esclerosante primária e colangite esclerosante autoimune. A primeira afeta principalmente homens adultos. Sorologicamente se mostra reativa com o p-ANCA atípico, também conhecido como anticorpo perinuclear anti-neutrofílico nuclear (p-ANNA). A presença desse anticorpo também possibilita o diagnóstico de vasculites sistêmicas, assim como de retocolite ulcerativa (RCU).

Por sua vez, a colangite esclerosante autoimune é uma doença da infância e os anticorpos encontrados na circulação do paciente são os mesmos da hepatite autoimune tipo I (ANA e AML) (BOGDANOS et al, 2008).

Segundo GONZALEZ-HUEZO (2008), a CEP está freqüentemente associada à doença inflamatória do intestino, usualmente a RCU, em até 70% dos casos, e mais raramente à doença de Crohn, atingindo cerca de 4 a 14% dos casos (LACERDA, 2001). De acordo com BJÖRNSSON E LUTH'S (2009), uma das complicações que atinge entre 10 a 30% dos pacientes é o colangiocarcinoma. Prurido, fadiga, deficiência de vitaminas e doença metabólica dos ossos também são complicações da CEP.

O transplante de fígado é a única terapia que aumenta a expectativa de vida dos pacientes que estão no estágio final da CEP (SILVEIRA, 2008) já que esta não apresenta resposta ao tratamento imunossupressor como observado nas outras doenças autoimunes (CHAPMAN, CULLEN 2008).

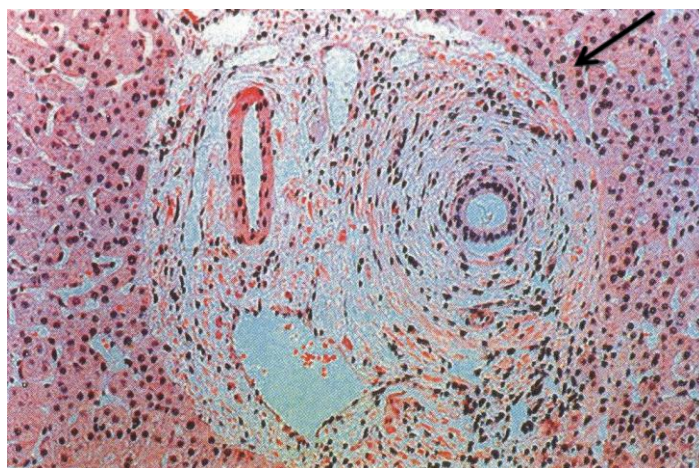
A presença de colangiocarcinoma e do carcinoma do intestino grosso deve ser investigado, antes do transplante hepático. A sobrevida pode ser de 85% em 1 ano e 75% em 3 anos, de acordo com CASTRO E SILVA et al. (2002). Estudos europeus mostraram sobrevida de 86% em 1 ano, 79% em 3 anos, 76% em 5 anos e 66% em 10 anos, o que corrobora com relatos anteriores (MOTTERSHEAD, 2008).

As doenças hepáticas crônicas podem induzir a má absorção de lipídeos e vitaminas lipossolúveis, o que provoca déficit nutricional. SARON et al. (2009), observaram que pacientes com atresia biliar, principalmente com colestase e HAI, eram os mais comprometidos de acordo com os níveis séricos das vitaminas A, D e E.

O diagnóstico de CEP é realizado através de exames laboratoriais, pelo aumento da enzima fosfatase alcalina, presença de autoanticorpos como p-ANCA e ANA, e através da colangiografia. A biópsia auxilia tanto no diagnóstico como na avaliação da evolução da doença.

Histopatologicamente são característicos da CEP espessamento e enduração do ducto biliar comum, observados à laparotomia. É composto de quatro estágios, sendo que o fígado parece normal nas fases iniciais, e com a progressão da doença vai se tornando grosseiramente nodular e com colestase (LACERDA, 2001; CHAPMAN, CULLEN 2008; Figura 9).

FIGURA 9 – ASPECTO HISTOPATOLÓGICO DE COLANGITE ESCLEROSANTE PRIMÁRIA



FONTE: (LACERDA, 2001)

NOTA: Alteração histológica típica em “casca de cebola” ao redor do ducto biliar interlobular - estágio 1.

Os anticorpos ANCA constituem um grupo de autoanticorpos que reconhecem proteínas dos neutrófilos. Os anticorpos associados com Granulomatose de Wegener e poliarterites microscópicas são dirigidos contra a serina proteinase 3 (padrão citoplasmático na imunofluorescência, c-ANCA), e contra mieloperoxidase (padrão perinuclear de fluorescência, p-ANCA). O padrão p-ANCA atípico é

detectado na CEP e na RCU. Este caracteriza um anticorpo dirigido contra uma proteína de envelope nuclear de neutrófilos de 50 Kd (TERJUNG et al., 2000, 2009).

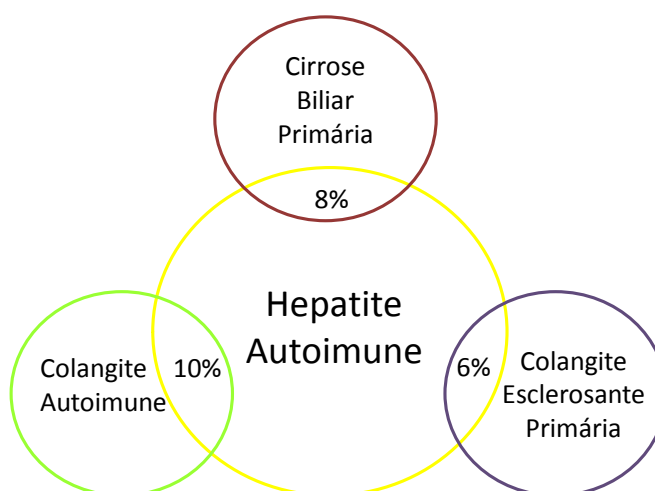
Por sua vez, ZAULI et al. (1997) e TERJUNG et al. (2000, 2009) identificaram associação do p-ANCA atípico com HAI tipo I, com estudos sugerindo que altos títulos desse anticorpo podem estar presentes em até 90% dos pacientes (CZAJA, HOMBURGER, 2001)

Até o momento são inexistentes os estudos de associação clínico-laboratorial entre o ANCA, CEP e HAI nos pacientes do sul do Brasil.

3.2.4 Síndrome de Sobreposição

Na SSP ocorre comprometimento autoimune tanto das vias biliares como dos hepatócitos. Aspectos clínicos, bioquímicos e marcadores específicos das doenças hepáticas autoimunes manifestam-se em sobreposição que ocorre entre HAI e CBP, ou HAI e CEP (RUST, 2008). Na Figura 10 têm-se as sobreposições mais freqüentes. O diagnóstico definitivo na SSP é mais difícil, e a orientação terapêutica varia de acordo com o órgão comprometido. A colestase é o denominador comum, sendo que aparece com mais frequência em algumas sobreposições (FRICHE-PASSOS, MEDEIROS, 2001; RUST, BEUERS, 2008).

FIGURA 10 – SOBREPOSIÇÃO DA HEPATITE AUTOIMUNE E OUTRAS HEPATOPATIAS



FONTE: Adaptado FRICHE-PASSOS, MEDEIROS, 2001

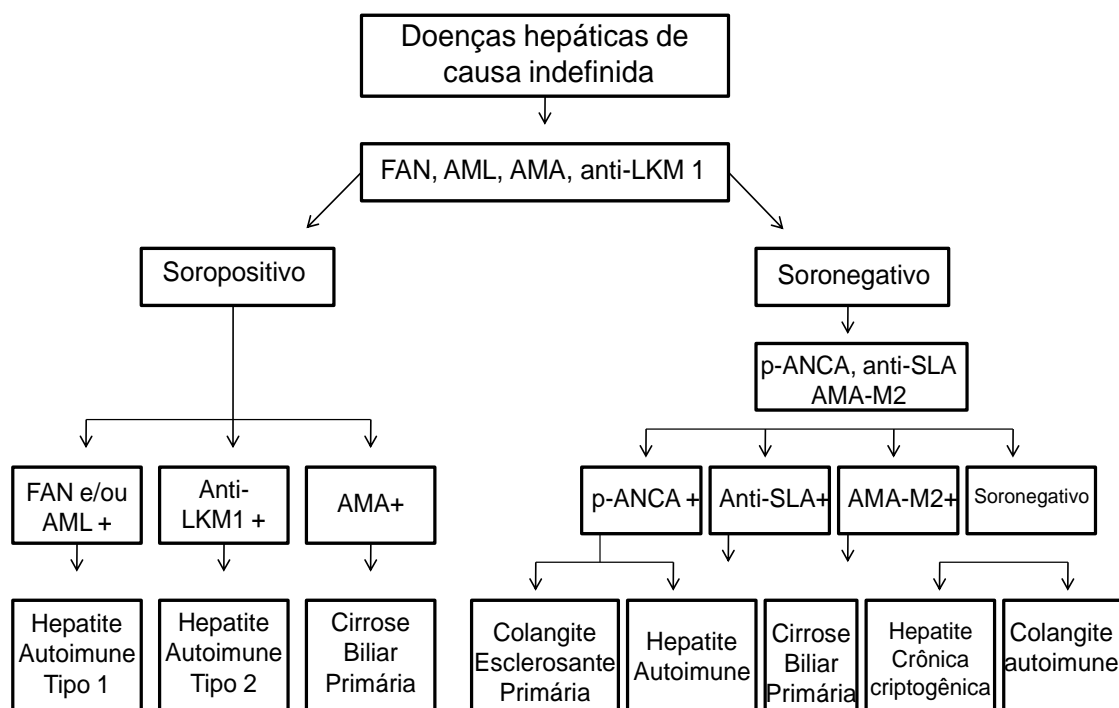
A cirrose biliar primária com hepatite autoimune representa a SSP descrita com maior frequência, e está associada a pior prognóstico. Esta pode ser uma importante causa da resistência ao tratamento com ácido ursodeoxicólico em pacientes com CBP. A investigação do anticorpo anti-gp210 pode ser de real contribuição nessas situações, pelo valor preditivo que apresenta, conforme será caracterizado no item 3.3 (SILVEIRA, LINDOR, 2007).

A sobreposição da HAI com CEP é relatada mais raramente. TAKIGUCHI et al (2002) compilou um total de 27 casos de SSP, observando que em 3 casos a CEP foi diagnosticada antes da HAI, em 6 casos foi concomitante e em 18 o diagnóstico da CEP foi posterior à HAI. Nestes casos a sobreposição foi observada com maior frequência em homens jovens (15/27). A associação com doença inflamatória intestinal foi demonstrada em 19 casos. Os autores relatam ainda o caso de uma paciente de 36 anos, diagnosticada como portadora de HAI, devidamente medicada, até que os níveis enzimáticos diminuíssem. Após 3 meses as enzimas elevaram-se novamente, e com o tratamento somente os níveis séricos da ALT diminuíram. Os níveis das enzimas colestáticas continuaram aumentados, possibilitando o diagnóstico de sobreposição da HAI com CEP. Com boa resposta ao tratamento imunossupressor, a presença de colestase é um fator importante para o prognóstico da sobreposição da HAI com CEP. O diagnóstico e o acompanhamento da SSP são essenciais para determinar o momento ideal para o transplante hepático.

A investigação dos autoanticorpos recém citados, como AML, FAN, AMA, anti-LKM1 e ANCA, nas diferentes doenças hepáticas de origem autoimune pode representar um valioso instrumento na detecção precoce de possíveis sobreposições.

A Figura 11 evidencia a aplicação diagnóstica dos autoanticorpos citados, através de um algoritmo nas doenças hepáticas de origem desconhecida.

FIGURA 11 – ALGORÍTIMO DAS DOENÇAS HEPÁTICAS DE CAUSA INDEFINIDA



FONTE: Adaptado de CZAJA, HOMBURGER, 2001

3.3 MARCADORES DE PROGNÓSTICO NAS DOENÇAS HEPÁTICAS AUTOIMUNES

A principal forma de aumentar a sobrevida de pacientes com doenças hepáticas autoimunes é o diagnóstico precoce e a instituição de uma terapêutica inicial adequada. A taxa de mortalidade em pacientes não tratados e com alto grau de atividade inflamatória determinada histopatologicamente pode chegar, na HAI por exemplo, a 40% em 6 meses, 50% em 3 anos e 90% em dez anos. A sobrevida em pacientes adultos e pediátricos tratados ultrapassa 90% após 10 anos de diagnóstico (CZAJA AJ 2002).

Atualmente, diversos estudos têm se voltado à identificação de fatores preditores de doença mais grave nas diferentes DAI. Como exemplo tem-se o fator reumatóide (FR) e anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado (anti-CCP), que constituem importantes marcadores imunológicos de diagnóstico e prognóstico da AR (GALATI et al., 2008; NELL-DUXNEUNER et al., 2010).

Neste contexto, estudos recentes têm destacado um papel preditivo para alguns anticorpos nas doenças hepáticas autoimunes, como os anticorpos anti-nucleares na progressão da CBP. Aproximadamente 20 a 30% dos pacientes apresentam positividade para o anticorpo anti-centrômero, detectado nos ensaios de imunofluorescência com células HEp-2 (MIYACHI et al., 2008). Tal associação representa um fator de risco na progressão da doença, relacionado a um curso mais grave e de pior prognóstico, caracterizado por hipertensão portal (NAKAMURA et al., 2007a). De acordo com GAO et al. (2008), na China, um número significativo de pacientes com anticorpo anti-centrômero positivo desenvolve hipertensão portal ($p < 0.05$, $OR = 9.259$) em relação aos negativos, observando-se ainda concomitância significativa para Síndrome de Sjögren (SS) nos mesmos ($p < 0.001$). GRANITO et al. (2007) fizeram observações semelhantes em pacientes da Itália, e sugerem que os anticorpos anti-SSA/Ro (isoladamente, sem o anti-SSA/B) e anti-centrômero podem ser considerados no diagnóstico da CBP, inclusive nas situações de pacientes negativos para o anticorpo AMA, além da relação com doença de maior atividade.

De forma similar, no aspecto preditivo, estudos em diferentes populações vêm demonstrando que a positividade para o anticorpo anti-gp210 em pacientes com CBP caracteriza um fator de risco significativo de progressão para falência hepática, sendo detectado em aproximadamente 30% dos pacientes (NAKAMURA et al., 2005; MIYACHI et al., 2008; GAO et al., 2008). Histopatologicamente, anticorpos anti-gp210 positivos foram associados de forma significativa com quadro mais grave de interface de hepatite e inflamação lobular, enquanto anticorpos anti-centrômero positivos foram associados com reação ductular mais intensa (NAKAMURA et al., 2007a). BAUER E HABIOR (2007), ao desenvolverem um ensaio imunoenzimático para detecção do anticorpo anti-gp210, demonstraram que esse constitui um anticorpo anti-nuclear dirigido especificamente contra peptídeos da porção C-terminal do envelope nuclear (a glicoproteína gp210). Segundo os autores, o mesmo apresenta 99% de especificidade para CBP, não sendo detectado em indivíduos saudáveis. Pode ser detectado em aproximadamente 25% do total de pacientes com CBP e em 10 a 50% daqueles pacientes com CBP negativos para o anticorpo AMA. O anti-gp210 permite identificar um subgrupo de pacientes com desenvolvimento mais grave da doença, fortalecendo o diagnóstico em casos em que a apresentação clínica não é clara, pois podem preceder o desenvolvimento da doença sintomática (INVERNIZZI et al., 2001).

Dessa forma, a investigação dos anticorpos anti-gp210 e anti-centrômero em pacientes com doença hepática autoimune, mais especificamente a CBP, são de relevante valor na avaliação da progressão da doença, e direcionam para prognóstico de falência hepática ou hipertensão portal, respectivamente.

Até o momento não se tem relatos de tal abordagem em pacientes com doença hepática autoimune no Brasil.

3.4 CO-MORBIDADES ASSOCIADAS ÀS DOENÇAS AUTOIMUNES DO FÍGADO

A presença de outras doenças autoimunes concomitantes com as DAI do fígado tem sido descrita na literatura, e possivelmente estão relacionadas à presença de genes de susceptibilidade em comum (IRVING et al., 2007, LUDVIGSSON et al., 2007, NAKAMURA et al., 2007b, KOGA et al., 2008). Estas associações podem ser com DAI sistêmicas (AR, LES, SS e esclerodermia, entre outras) ou órgão específicas (doença celíaca - DC, gastrite atrófica). RUBIN e FARBER, na década de 90 já enfatizavam que até 80% dos pacientes com DAI do fígado podem apresentar mais uma DAI concomitante e 40% apresentam duas ou mais. Corroborando, WATT et al. (2004) caracterizaram em um levantamento de dados em pacientes com CBP que 53% apresentavam pelo menos uma DAI adicional.

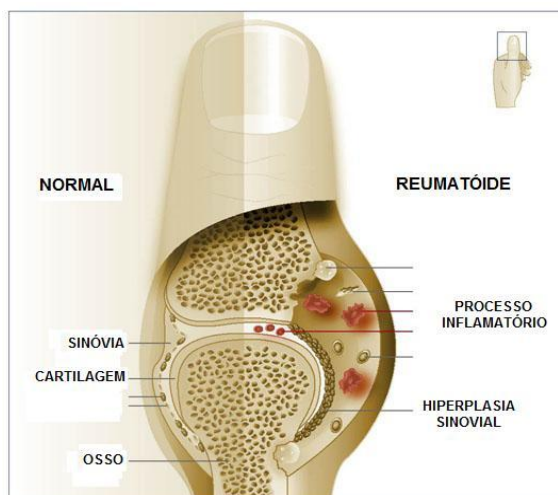
No Brasil, são inexistentes relatos mostrando um amplo painel de autoanticorpos e sua associação clínico-laboratorial em hepatopatias de origem autoimune. É possível que a análise conjunta desses anticorpos com aqueles relacionados ao diagnóstico e prognóstico possa contribuir para maior compreensão da fisiopatogenia das DAI do fígado.

3.4.1 Doenças autoimunes sistêmicas e autoanticorpos nas DAI do fígado

3.4.1.1 Artrite reumatóide

AR é uma doença inflamatória crônica, autoimune, cuja prevalência em adultos é estimada em 1-3% da população mundial, sendo aproximadamente três vezes mais freqüente em mulheres. Esta afeta simetricamente articulações diartrodiais, principalmente punhos e dedos, podendo progredir para articulações maiores, tais como joelhos, ombros e cotovelos (TEHLIRIAN, BATHON, 2008). A AR resulta da ação de células T e B autoreativas que levam a sinovite, infiltração celular e a processo desorganizado de destruição e remodelação óssea (Figura 12). É na membrana sinovial que surgem os primeiros focos inflamatórios da doença (FELDMANN, BRENNAN, 1996).

FIGURA 12 – ARTICULAÇÃO NA ARTRITE REUMATÓIDE



FONTE: Adaptado de www.morphosys.com

Relatos recentes têm demonstrado importante associação da AR com doenças autoimunes hepáticas como CBP e HAI. A CBP apresenta alta frequência de manifestações extra-hepáticas (BURNEVICZ; LOPATKINA, 2006). Estudos demonstram que a AR coexiste em 1,8 a 5,6% dos pacientes com CBP (CARAMELLA et al., 2007). De acordo com SIEGEL et al. (2003), reumatologista e hepatologista devem estar atentos a essa combinação, investigando CBP através do AMA, diante de pacientes com AR apresentando testes hepáticos anormais, que nem sempre estão relacionados ao uso de medicações. KOGA et al. (2008), por sua vez, demonstraram positividade para o anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado,

também conhecido como anti-citrulina ou anti-CCP, em 2,7% dos pacientes com CBP e 10,5% dos pacientes com hepatite autoimune, sendo confirmada a associação com AR em 100% e 86,4% destes pacientes, respectivamente.

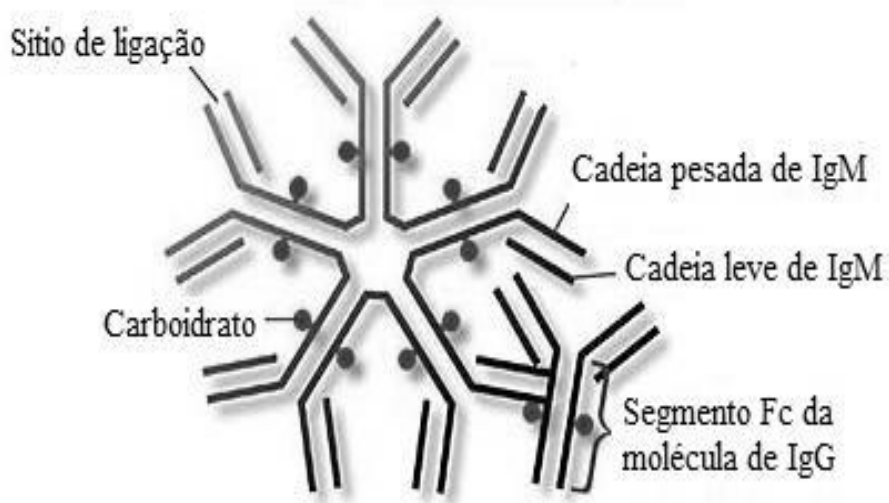
O anticorpo anti-CCP é detectado em aproximadamente 80% dos pacientes com AR, e apresenta especificidade diagnóstica superior a 95% para a doença. Esse pode ser encontrado em fases precoces da doença, e além do valor diagnóstico é considerado marcador de pior prognóstico para a afecção (NISHIMURA, et al., 2007). De acordo com KOGA et al. (2008), a determinação do anticorpo anti-CCP é de real contribuição para o diagnóstico de AR em pacientes com doenças hepáticas autoimunes. Dados semelhantes foram observados por SANTIAGO et al., 2008, em um estudo envolvendo pacientes com CBP e pacientes com esclerodermia.

A associação de CEP com AR também tem sido descrita, mostrando em alguns casos evolução não usual para doença progressiva do fígado. De acordo com GOW et al. (2001), a AR em associação com CEP pode servir como marcador clínico de pacientes de alto risco de progressão para cirrose, os quais necessitam permanecer sob rígida observação e acompanhamento. A concomitância de AR, CEP e DC foi relatada pelos autores em um dos pacientes em estudo.

Tais dados ressaltam a co-existência de AR e doença hepática autoimune, e corroboram o valor de estudos voltados à triagem do anticorpo anti-CCP e do FR em pacientes com DAI do fígado, como visa a presente investigação, pela perspectiva de diagnóstico precoce da AR nesses indivíduos, valor prognóstico, além de manejo clínico e terapêutico mais adequados. Corrobora ainda a ausência de relatos na população de pacientes do sul do Brasil.

O FR constitui um grupo de autoanticorpos com propriedade de reagir com epítomos da porção Fc da IgG e, além de ser considerado um dos marcadores imunológicos da AR, atua ativamente na patogênese da doença, sendo sua presença sugestiva de prognóstico desfavorável (GOODSON, FARRAGHER, SYMMONS, 2008; NELL-DUXNEUNER et al., 2010). *In vivo*, o FR pode ser das classes IgA, IgG ou IgM, porém a classe IgM é a que se detecta sorologicamente com maior frequência, sendo usualmente investigado por metodologia de aglutinação em látex (BUREK, ROSE, 1995; Figura 13).

FIGURA 13 – FATOR REUMATÓIDE LIGADO À PORÇÃO Fc DE UMA MOLÉCULA IgG



FONTE: Adaptado de www.bio.davidson.edu/courses/immunology/Students/spring2006

3.4.1.2 Lúpus eritematoso sistêmico

Outras doenças autoimunes sistêmicas como LES, esclerodermia sistêmica, CREST e SS têm sido associadas às doenças hepáticas autoimunes (HATZIS et al. 2008; DEEN et al. 2009)

O LES representa o protótipo das DAI sistêmicas, levando ao acometimento de múltiplos órgãos simultaneamente, tais como pele, rim, pulmão e coração, entre outros (Figura 14). Ocorre perda da tolerância imunológica a componentes do núcleo da célula, como DNA, cromatina e proteínas não histonas ácidas, entre outras, estando a fisiopatogenia da doença diretamente relacionada à deposição de complexos imunes circulantes (FIKE, 1997a; JANEWAY, 2007).

FIGURA 14 – LESÕES DE PELE EM PACIENTE COM LES



NOTA: <http://www.pontoxp.com/lupus-eritematoso-sistemico-doenca-auto-imune-sintomas/>

Embora a sobreposições entre LES e HAI seja considerada condição relativamente rara (CHOI et al., 2008), relatos recentes têm ressaltado sua ocorrência inclusive em pacientes jovens, na faixa de 12 a 15 anos, verificando-se que a doença hepática pode preceder o diagnóstico de LES (IRVING et al., 2007; USTA et al., 2007; DEEN et al., 2009). Os autores ressaltam a importância de investigar HAI nos pacientes com disfunção hepática e LES. SONOMOTO et al. (2009) relatou as complicações da ocorrência de LES, HAI e púrpura trombocitopênica em uma paciente de 51 anos.

Por sua vez, WIELOSZ et al. (2008) descrevem um caso de co-existência de 5 doenças autoimunes em uma paciente de 36 anos: psoríase, CBP, e síndrome de sobreposição de LES com esclerose sistêmica, síndrome anti-fosfolípide e síndrome de Sjögren secundários. Embora a literatura reporte síndromes de sobreposição em diferentes combinações, a concomitância de 5 doenças autoimunes é extremamente rara.

Ainda nesse contexto, a associação de LES com CEP também tem sido observada (OH et al., 2006), inclusive em situação de agravamento por nefrite lúpica (KADOKAWA et al., 2003).

A triagem laboratorial para LES se faz através da detecção dos anticorpos anti-nucleares, por Imunofluorescência Indireta com células HEp-2 (FAN-HEp-2), confirmando-se o diagnóstico pela pesquisa dos anticorpos anti-dsDNA, anti-cromatina e anti-Sm (DELLAVANCE et al., 2003, 2009), conforme caracterizado no item 4.3.5.2, em materiais e métodos. Os anticorpos anti-dsDNA são altamente específicos para o LES, porém em títulos baixos podem ser detectados em outras doenças autoimunes como a SS, DMTC e dermatomiosites. De acordo com CZAJA et al., 1997, o anticorpo anti-DNA pode ocorrer na HAI. Sua positividade é associada à presença do HLA-DR4 e pode identificar um subgrupo de pacientes com baixa resposta à terapia com corticosteróide.

O anticorpo anti-cromatina ou anti-nucleossomo está presente em 50 a 100% dos pacientes com LES e possui especificidade entre 90 e 99%. Juntamente com achados clínicos e outros exames laboratoriais ajudam no diagnóstico do LES e no lúpus induzido por drogas. Pode ser utilizado como marcador quando não há positividade para o anti-ds-DNA. Apresenta correlação com problemas renais, como glomerulonefrites, em pacientes que estão com doença em atividade. Em menor porcentagem pode ser encontrado em outras doenças autoimunes como Síndrome

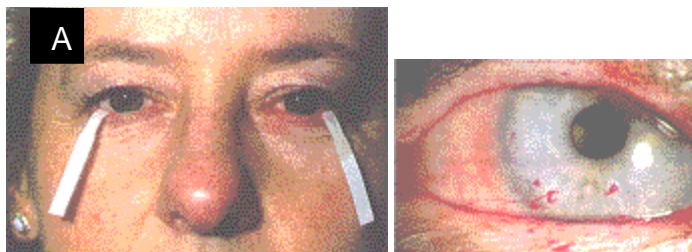
de Sjögren e síndrome antifosfolípide primária. O anti-cromatina também pode ser encontrado entre 40 a 50% dos pacientes com HAI, com maior frequência nos que estão com doença em atividade. Pacientes expostos ao fator anti-necrose tumoral induzem formação do anticorpo anti-cromatina, porém sem relevância clínica (GÓMEZPUERTA, et al, 2008; CZAJA, 2010b).

O diagnóstico precoce do LES nos pacientes com doença hepática autoimune certamente reflete numa conduta terapêutica mais adequada e precoce, tornando tal investigação de aplicabilidade prática aos pacientes.

3.4.1.3 Outras doenças do colágeno

A Síndrome de Sjögren (Figura 15) é uma doença crônica autoimune, caracterizada por infiltração linfocítica de glândulas exócrinas como as lacrimais e salivares. Envolvimento de órgãos não exócrinos incluindo rins, fígado, tireóide e sistema nervoso central tem sido reportado nestes pacientes, assim como miopatia inflamatória, nefrite intersticial e até comprometimento glomerular. A SS pode se apresentar como uma doença primária ou secundária; a primária é caracterizada pela secura bucal e ocular, causando xerostomia e xeroftalmia; a secundária se apresenta em associação com outros processos autoimunes, em especial distúrbios do tecido conjuntivo, como LES, esclerodermia ou AR (FIKE, 1997a; BARCELLOS, ANDRADE 2005; COROMINAS et al., 2008).

FIGURA 15 – SÍNDROME DE SJÖGREN



FONTE: <http://autoimunes.blogspot.com/2008/11/sindrome-de-sjogren.html>

NOTA: a) Teste de Schirmer.

A associação de SS com anormalidades hepáticas como CBP e HAI tem sido relatada (LIU et al., 2008; KUMAGI, HEATHCOTE, 2008) e foi primeiramente sugerida por CRISTANSSON em 1954. De acordo com STEFANIDIS et al. (2008), é

possível que o dano hepático e de glândulas salivares compartilhem mecanismos patogênicos em comum. Os autores descreveram o caso de uma paciente de 43 anos apresentando SS acompanhada de polimiosite, nefropatia membranosa e HAI.

Frequência significativamente elevada de doença pulmonar intersticial tem sido observada em pacientes com CBP e SS concomitantes ($p < 0.0001$) em relação àqueles que não apresentam SS, com a hipótese de que a doença pulmonar intersticial e SS na CBP representem uma associação causal e não casual (LIU et al., 2008). De acordo com HATZIZ (2008) essa sobreposição é pouco comum, parece ser patologicamente leve, com propensão para progressão lenta conforme avaliação clínica, bioquímica e histopatológica.

Laboratorialmente, a SS pode ser associada a padrão pontilhado fino na imunofluorescência com células HEp-2 (DELLAVANCE et al., 2009). Pode ainda ser confirmada sorologicamente pela presença específica dos anticorpos anti SS-A/Ro e anti-SS-B/La, usualmente detectados por metodologia de ELISA, através da triagem pelo perfil ENA e posterior teste confirmatório.

Por sua vez, a Síndrome CREST constitui uma forma limitada da esclerose sistêmica, relativamente benigna e de progressão lenta. Essa é caracterizada por calcinose, fenômeno de Raynaud, dismotilidade esofagiana, esclerodactilia e telangiectasia, sendo eventualmente complicada pela associação com CBP (Figura 16; KUMAGI et al., 2008). Tal associação é clínica e etiologicamente importante, e o clínico deve estar atento para que nas manifestações brandas da síndrome CREST essa não seja interpretada apenas como complicação da doença hepática (KOURAKLIS et al., 2002). NAKAMURA et al. (2007b), descreveram 2 casos de pacientes apresentando simultaneamente CBP e CREST, ambas ainda com SS, uma com tireoidite de Hashimoto e a outra com doença de Graves. Segundo os autores, embora tal combinação seja rara, o diagnóstico e terapêutica precoces são fundamentais diante da associação de 4 condições autoimunes.

De acordo com o Consenso Brasileiro de FAN-HEp-2 (DELLAVANCE et al., 2003, 2009), na triagem sorológica para os anticorpos anti-nucleares por imunofluorescência indireta, o padrão de fluorescência centromérico (anticorpo anti-centrômero) se encontra fortemente associado ao diagnóstico da Síndrome CREST.

FIGURA 16 – FENÔMENO DE RAYNAUD



FONTE: <http://www.dermis.net/dermisroot/pt/49281/image.htm>

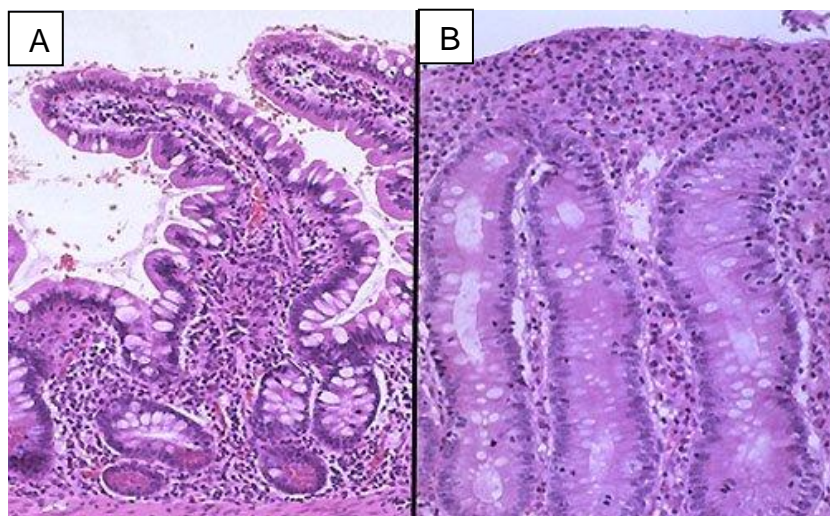
3.4.2 Doenças autoimunes órgão específicas e autoanticorpos nas DAI do fígado

3.4.2.1 Doença celíaca

Em relação às doenças autoimunes órgão específicas, a co-existência de doença hepática autoimune e DC têm sido descrita na literatura (KAUKINEN et al., 2002; VOLTA et al., 2002; BARBERO et al., 2008; MIRZAAGHA et al., 2010).

A DC é considerada enteropatia imunologicamente mediada, que se desenvolve em indivíduos geneticamente susceptíveis ao glúten presente no trigo, centeio, cevada e aveia (HAMER, 2005; UTIYAMA et al., 2007; UTIYAMA, 2010). Caracteriza-se por inflamação crônica da mucosa do intestino delgado, que pode resultar na atrofia das vilosidades intestinais, com conseqüente má absorção e aparecimento de sintomas clássicos como diarreia, distensão e dor abdominal (KAGNOFF, 2005). A associação de dados clínicos, histopatológicos e sorológicos confere o diagnóstico da DC (Figura 17; BAI et al., 2005).

FIGURA 17 – MUCOSA DUODENAL NORMAL E DOENTE NA DOENÇA CELÍACA



FONTE: Adaptado de: <http://www.down21.org/salud/salud/celiaca.htm>

NOTA: a) mucosa normal; b) mucosa doente

O anticorpo anti-endomísio (EmA-IgA) apresenta alta especificidade (97-100%) para o diagnóstico da afecção, estando os títulos freqüentemente relacionados ao grau de atrofia das vilosidades e apresentação dos sintomas (KOTZE et al., 2003; UTIYAMA, 2009). De forma similar, a detecção do anticorpo anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG) representa na atualidade importante instrumento de triagem sorológica em pacientes, familiares de celíacos e outras populações de risco de desenvolver a DC, assim como no monitoramento da dieta isenta de glúten (BAI et al., 2005; BAPTISTA et al 2005; NISIHARA et al 2005; GOELDNER et al 2011; NASS et al 2011).

A DC não tratada é importante causa de elevação de transaminases e pode estar associada com formas graves de doença hepática, inclusive as autoimunes. Doença prévia do fígado foi associada a risco significativamente superior (4 a 6 vezes) para DC, assim como indivíduos com DC apresentam elevado risco de doença hepática subsequente (LUDVIGSSON et al., 2007). Atualmente é recomendado investigar os níveis de transaminases em pacientes com DC, e aplicar testes específicos para diagnóstico de DC em pacientes com elevação de transaminases ou colestase de etiologia desconhecida (BARBERO et al., 2008). VILLALTA et al. (2005), detectaram DC em 6,4% dos pacientes com HAI e consideram a triagem para DC altamente recomendável nesses indivíduos. De acordo com KAUKINEN et al. (2002) e COLECCHIA et al. (2011), a dieta isenta de glúten pode prevenir a progressão para falência hepática.

Na população brasileira são inexistentes os relatos de associação entre DC e doenças hepáticas autoimunes.

3.4.2.2 Gastrite atrófica e anemia perniciosa

Ainda dentre as doenças autoimunes órgão específicas, cabe avaliar a gastrite atrófica em pacientes com doenças hepáticas autoimunes.

A gastrite atrófica de corpo (GAC) representa condição inflamatória crônica que afeta a mucosa da região do corpo gástrico. Caracteriza-se pelo desaparecimento das glândulas oxínticas e eventual substituição por tecido fibroso. A resposta autoimune ocasiona infiltração de leucócitos e liberação de citocinas que aceleram o processo da doença. Essa resposta compromete a produção de ácido clorídrico, enzimas digestivas e fator intrínseco. Relatos sugerem que a GAC aumenta o risco de câncer e tumores carcinóides (KOKKOLA et al., 1998; LAHNER et al., 2010) e é associada à anemia com deficiência de ferro e anemia perniciosa (MARIGNANI et al., 1999; WHITTINGHAM, MACKAY 2005).

Fatores imunológicos estão envolvidos na etiologia da doença e os anticorpos anti-célula gástrica parietal (anti-CGP), dirigidos contra o H⁺/K⁺-ATPase das células gástricas parietais, são considerados os principais marcadores imunológicos da GAC. Esses autoanticorpos causam destruição em massa das células parietais na mucosa gástrica. O anti-CGP pode ser encontrado em pacientes com anemia perniciosa (90%) e gastrite atrófica (60%), e tem sido investigado rotineiramente por imunofluorescência indireta. A presença desse anticorpo auxilia na confirmação do diagnóstico clínico, além de ser marcador precoce e estar associado com o grau de lesão histopatológica (LO et al., 2005; SUGIU et al., 2006).

Embora escassos estudos evidenciem gastrite atrófica e anemia perniciosa como co-morbidades nas doenças hepáticas autoimunes (DE BLOCK et al., 2000; DOHMEN et al., 2002; BERGWITZ et al., 2002), a ausência de relatos em pacientes da população do sul do Brasil tornam de interesse avaliar a prevalência dos anticorpos anti-CGP e sua correlação clínica nos pacientes do presente estudo.

Em síntese, a Tabela 1 sumariza todos os autoanticorpos que serão investigados no presente estudo, bem como a associação clínica principal de cada

um destes. É possível desta forma, aliado às informações anteriores, dar uma visão da abrangência da pesquisa e de sua contribuição aos pacientes com doenças hepáticas autoimunes do nosso meio.

TABELA 1 – AUTOANTICORPOS EM ESTUDO E RELEVÂNCIA CLÍNICA PRINCIPAL

AUTOANTICORPOS	RELEVÂNCIA CLÍNICA
AMA	Cirrose biliar primária
AML	Hepatite autoimune tipo I
Anti-LKM1	Hepatite autoimune tipo II
FAN	Hepatite autoimune tipo I, Doenças do colágeno
ANCA	Colangite esclerosante primária, Hepatite autoimune tipo I
GP-210	Cirrose biliar primária (falência hepática)
Anti-centrômero	Cirrose biliar primária (hipertensão portal), Esclerodermia com CREST
Anti-CCP	Artrite reumatóide
Fator reumatóide	Artrite reumatóide
Anti-cromatina	LES
Anti-ds-DNA	LES
Perfil ENA	Doenças do colágeno
SSA/Ro	Síndrome de Sjögren
SSB/La	Síndrome de Sjögren
Anti-Sm	LES
Anti-Sm/RNP	LES e Doença mista do tecido conjuntivo
EmA-IgA	Doença celíaca
Anti-tTG	Doença celíaca
Anti-CGP	Gastrite atrófica e anemia perniciosa

FONTE: a autora (2011)

NOTA: AMA: anti-mitocôndria; AML: anti-músculo liso; anti-LKM1: anti-microsoma de fígado e rim; FAN: anti-nuclear; ANCA: anti-citoplasma de neutrófilo; anti-GP-210: anti-glicoproteína 210; anti-CCP: anti citrulina; EmA-IgA: anti-endomísio; anti-tTG: anti transglutaminase; anti-CGP: anti célula gástrica parietal

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA

O presente estudo representa investigação de caráter imunológico, transversal e foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Anexo 1).

O projeto constitui uma parceria entre o Ambulatório de Hepatologia e o Laboratório de Imunopatologia do HC-UFPR, e envolveu o total de 160 indivíduos, entre pacientes e controles, conforme descrito a seguir.

4.2 CASUÍSTICA

4.2.1 Pacientes com Doença Hepática Autoimune

Foi estudada população de 60 hepatopatas previamente diagnosticados como portadores de doença hepática autoimune (hepatite autoimune, cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária e síndrome de sobreposição), acompanhados rotineiramente na Hepatologia do Hospital de Clínicas da UFPR.

Os indivíduos foram incluídos no estudo consecutivamente, entre o período de outubro/2009 à outubro de 2010, de acordo com os critérios de inclusão por apresentar diagnóstico de doença hepática autoimune. O critério de diagnóstico foi controlado pelos médicos/residentes especificamente para cada hepatopatia, conforme descrito na literatura (KRAWITT, 2006; LLEO et al., 2008; BJÖRNSSON, 2009, SELMI, 2009), no ato da seleção dos pacientes, no próprio Ambulatório de Hepatologia do HC-UFPR.

Foram excluídos os hepatopatas sem o diagnóstico de doença autoimune.

Os pacientes foram esclarecidos sobre a pesquisa e, após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido, foram submetidos à coleta de sangue. Informações clínicas adicionais relevantes para o estudo foram obtidas através de consulta aos prontuários, bem como na forma de questionário aplicado previamente

à coleta do sangue (Anexo 2). Todos os dados foram adequadamente registrados, comprometendo-se os pesquisadores de que esse material seria utilizado especificamente para os propósitos da pesquisa.

4.2.2 Grupo controle

Como grupo controle foram estudados amostras de soros de 100 indivíduos voluntários e sadios. Estes eram de origem Euro-brasileira, pertencentes à mesma área geográfica dos pacientes e apresentando maior proximidade possível em relação ao sexo e idade dos mesmos. A idade dos indivíduos variou de 16 a 75 anos com média de 40 anos e mediana de 37 anos, sendo 72% (72/100) do sexo feminino e 28% (28/100) do sexo masculino (Tabela 2, Apêndice 4). As amostras de soro desses indivíduos fazem parte da soroteca do Laboratório de Imunopatologia do HC-UFPR. Os controles foram selecionados principalmente entre profissionais e estudantes da área da saúde, entre outros voluntários, e tiveram seu sangue coletado após esclarecimento e consentimento formal prévios.

Todos os dados demográficos dos pacientes e controles serão devidamente caracterizados nos resultados (item 5.1).

4.3 METODOLOGIA

4.3.1 Coleta de sangue

Foram coletados 10 ml de sangue venoso dos indivíduos, sendo 6 ml em tubo sem anticoagulante e 4 ml em tubo com EDTA (para determinações posteriores). Após centrifugação por 10 minutos a 3.500 rpm (Centrífuga Eppendorf 5416) as amostras de soro foram subdivididas em alíquotas e armazenadas à -80°C até o momento de serem utilizadas nas determinações laboratoriais. A coleta de sangue foi realizada no Ambulatório de Hepatologia do Hospital de Clínicas da UFPR.

As coletas de sangue dos pacientes tiveram início no mês de outubro/2009 e foram concluídas em outubro/2010.

4.3.2 Pesquisa de autoanticorpos

Todas as determinações laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas/UFPR.

As amostras de soros dos grupos em estudo foram investigadas, por técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI), para a presença dos autoanticorpos anti-músculo liso (AML), anti-mitocôndria (AMA), anti-microsoma de fígado e rim (anti-LKM), anti-nuclear (FAN), anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA), anti-célula gástrica parietal (CGP) e anti-endomísio (EmA-IgA). A pesquisa do fator reumatóide (FR) foi realizada por técnica de aglutinação com látex (BioSystems, S.A., Barcelona, Espanha). Os anticorpos anti-citrulina (anti-CCP), anti-glicoproteína 210 (anti-GP210), anti-antígenos nucleares extraíveis (perfil ENA), anti-transglutaminase (anti-tTG) e anti-cromatina foram investigados por ensaio de imunoabsorção ligado à enzima (ELISA), utilizando-se kits comerciais (Inova Diagnostics Inc., USA; ORGENTEC Diagnostika GmbH, Germany). Todas as amostras positivas para o FAN foram avaliadas para a presença do anticorpo anti-dsDNA, por IFI. Nos pacientes positivos para o perfil ENA foram realizados testes confirmatórios para os anticorpos anti-Sm, anti-RNP, anti-SS-A/Ro e anti-SS-B/La, utilizando técnica de ELISA através de kit comercial (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Germany). As determinações serão detalhadas nos itens a seguir.

4.3.3 Pesquisa de autoanticorpos relacionados ao diagnóstico das DAI hepáticas

Os anticorpos AML, AMA, anti-LKM, FAN e ANCA encontram-se diretamente relacionados ao diagnóstico das DAI hepáticas em estudo.

4.3.3.1 Pesquisa dos anticorpos AML, AMA e anti-LKM

A pesquisa dos anticorpos AML, AMA e anti-LKM foi realizada por técnica de IFI, conforme metodologia previamente descrita (RIZZETO, SWANA, DONIACH, 1973; BIGAZZI, ROSE, 1984). Os substratos empregados nas reações estão relacionados no Quadro 3.

QUADRO 3 – AUTOANTICORPOS E RESPECTIVOS SUBSTRATOS ANTIGÊNICOS DAS REAÇÕES DE IMUNOFLOURESCÊNCIA INDIRETA

AUTOANTICORPOS	SUBSTRATO
Anti-Músculo Liso (AML)	Estômago de rato
Anti-Mitocôndria (AMA)	Rim de rato
Anti-LKM	Rim e Fígado de rato
Anti Célula Gástrica Parietal (anti-CGP)	Estômago de rato
Anti-Endomísio (EmA-IgA)	Cordão umbilical humano
Anti-Nuclear (FAN)	Células HEp-2
Anti-Citoplasma de neutrófilos (ANCA)	Neutrófilos humano
Anti-DNA nativo (ds-DNA)	Crithidia luciliae

FONTE: RIZZETO, SWANA, DONIACH, 1973; BIGAZZI, ROSE, 1984; VOLTA, 1995; DELLAVANCE et al, 2002, 2003 e 2009.

Preparo dos substratos

Para a obtenção dos órgãos de rato, é adquirido um animal de aproximadamente 4 meses, fêmea, fornecido pelo biotério da Universidade Federal do Paraná. O animal é mantido em jejum por 2 dias e, após sacrifício, realiza-se a dissecação dos órgãos como estômago, rim e fígado, seguida de lavagem exaustiva dos mesmos em soro fisiológico. Estes órgãos são clivados e imersos em OCT-Tissue Tek (Miles, USA) e rapidamente congelados em nitrogênio líquido. Os blocos são mantidos à -80°C até que sejam feitos cortes criostáticos de 3µm de espessura (Reichert Histostat, USA). As lâminas contendo os cortes são mantidas à -20°C até o momento do uso nas reações específicas.

Reações de Imunofluorescência Indireta

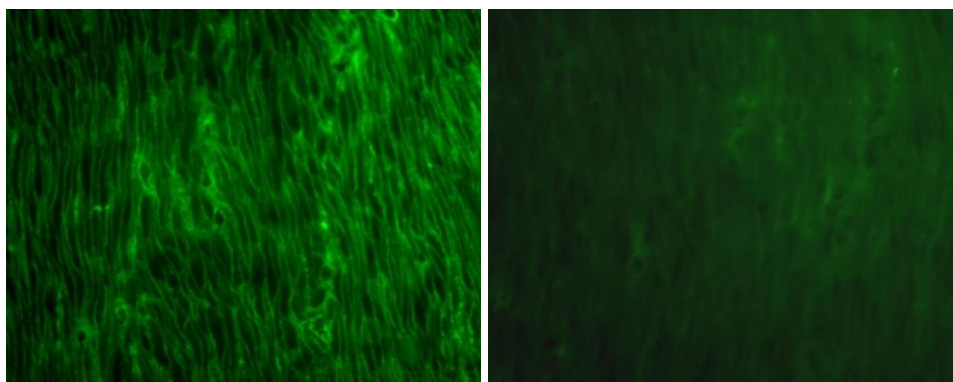
Para a pesquisa dos autoanticorpos AML, AMA e anti-LKM as amostras foram diluídas à 1:20 e 1:40 em tampão fosfato salina (PBS), pH 7.2. Os soros teste e os controles positivos e negativos foram aplicados sobre as lâminas contendo os substratos específicos para cada auto-anticorpo, as quais foram incubadas por 30

minutos à temperatura ambiente (20°C a 26°C). Após incubação e lavagem das lâminas por três vezes com tampão PBS, incubou-se novamente com conjugado fluorescente anti-imunoglobulina humana (GMK, Porto Alegre, RS) durante 30 minutos. Realizou-se novamente a lavagem das lâminas com PBS, e em seguida a montagem das mesmas com glicerina alcalina.

A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência (aumento: 400X e 1000X; Olympus, Japão), por três observadores, independentemente. Foram consideradas positivas as reações com títulos iguais ou superiores a 1:40 para os anticorpos AML e iguais ou superiores a 1:20 para AMA, LKM. Todas as amostras positivas nos testes de triagem foram retestadas para definição do título final de autoanticorpos.

O antígeno alvo do AML é a actina F do músculo, sendo a fluorescência detectada nas células da musculatura lisa de maneira uniforme ou granular (Figura 18). O AMA apresenta o complexo da enzima piruvato desidrogenase (70 kDa e 48 kDa) como antígeno alvo e cora intensamente o citoplasma de células epiteliais de túbulos distais (granular fino) e das alças de Henle, e de forma mais fraca os túbulos proximais (Figura 19). O anticorpo anti-LKM possui como antígeno alvo o retículo endoplasmático liso e rugoso (50 kDa), no fígado cora o citoplasma do hepatócito (granular fino difuso), enquanto no rim cora o epitélio renal tubular proximal (Figura 20).

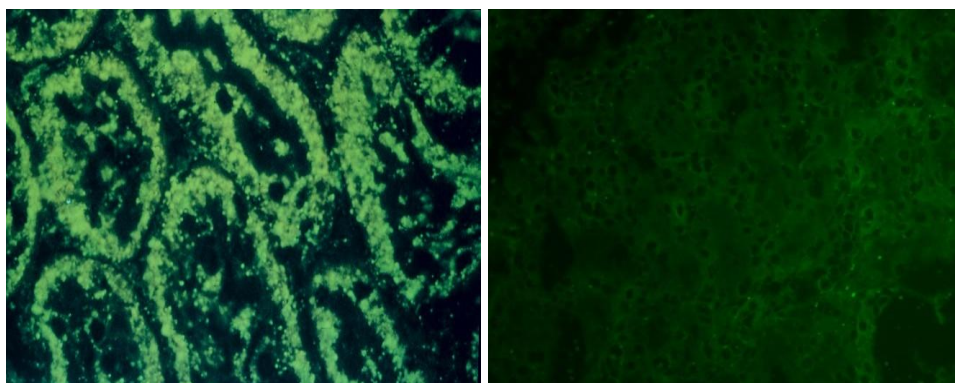
FIGURA 18 – IFI PARA O ANTICORPO AML



Reação positiva

Reação negativa

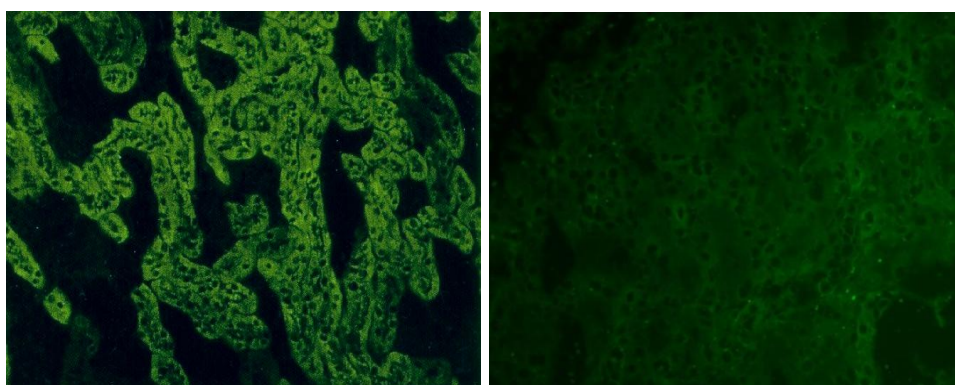
FIGURA 19 – IFI PARA O ANTICORPO AMA



Reação positiva

Reação negativa

FIGURA 20 – IFI PARA O ANTICORPO anti-LKM



Reação positiva

Reação negativa

4.3.3.2 Pesquisa do anticorpo anti-nuclear (FAN)

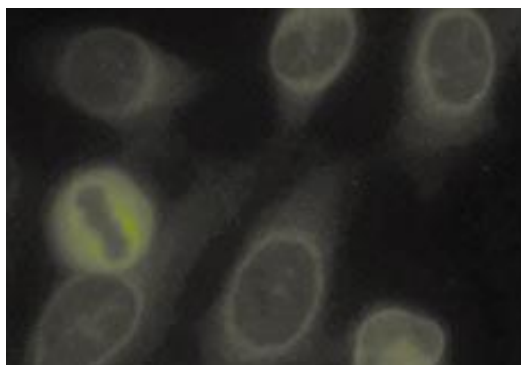
A pesquisa FAN foi realizada por IFI, utilizando kit comercial (Inova Diagnostics Inc., San Diego, CA, USA). As amostras foram diluídas à 1:80 e aplicadas em lâminas contendo como substrato células de cultura de tecido HEP-2 (Quadro 3) as quais foram incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente. Após incubação e lavagem das lâminas com PBS, procedeu-se nova incubação com conjugado fluorescente de IgG marcado com isotiocianato de fluoresceína, sob as mesmas condições. Em seguida, foi realizada nova lavagem e montagem das lâminas com glicerina tamponada.

A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência (aumento: 1000X; Olympus, Japão), por três observadores, independentemente, seguindo os critérios de leitura e caracterização dos padrões de fluorescência estabelecidos pelo I, II e III

Consenso Brasileiro de FAN HEp-2 (Figuras 21, 22 e 23; DELLAVANCE et al., 2002, 2003 e 2009).

Todas as amostras positivas nos testes de triagem foram retestadas para definição do título final de autoanticorpos, considerando-se positivas as reações com títulos iguais ou superiores a 1:80.

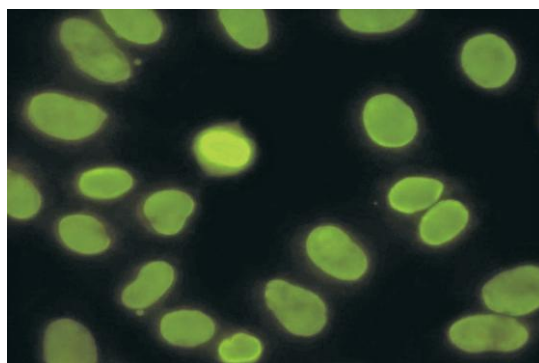
FIGURA 21 – FAN-HEp-2: PADRÃO DE FLUORESCÊNCIA NUCLEAR TIPO MEMBRANA NUCLEAR



FONTE: I Consenso Brasileiro FAN HEp-2

LEGENDA: O padrão é caracterizado por fluorescência em toda a membrana nuclear. Não observamos fluorescência em nucléolos; a célula em divisão, em todos os estágios, e o citoplasma apresentam-se não-fluorescentes.

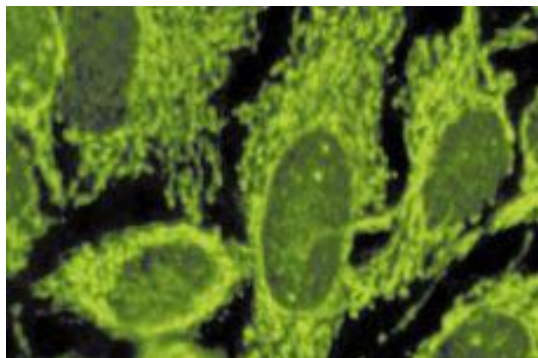
FIGURA 22 – FAN-HEp-2: PADRÃO DE FLUORESCÊNCIA NUCLEAR HOMOGÊNEO



FONTE: III Consenso Brasileiro FAN HEp-2

LEGENDA: Nucleoplasma fluorescente de forma homogênea e regular. Não é possível distinguir a área de nucléolo. Placa metafásica cromossômica intensamente corada, de aspecto hialino, também positiva na anáfase e telófase. Citoplasma normalmente não fluorescente.

FIGURA 23 – FAN-HEp-2: PADRÃO DE FLUORESCÊNCIA CITOPLASMÁTICO PONTILHADO RETICULADO



FONTE: I Consenso Brasileiro FAN HEp-2

LEGENDA: Fluorescência em múltiplos pontos dispostos sob forma de retículo irradiando a partir da periferia do núcleo por todo o citoplasma. Núcleo, nucléolo e célula em divisão não fluorescentes.

4.3.3.3 Pesquisa de anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA)

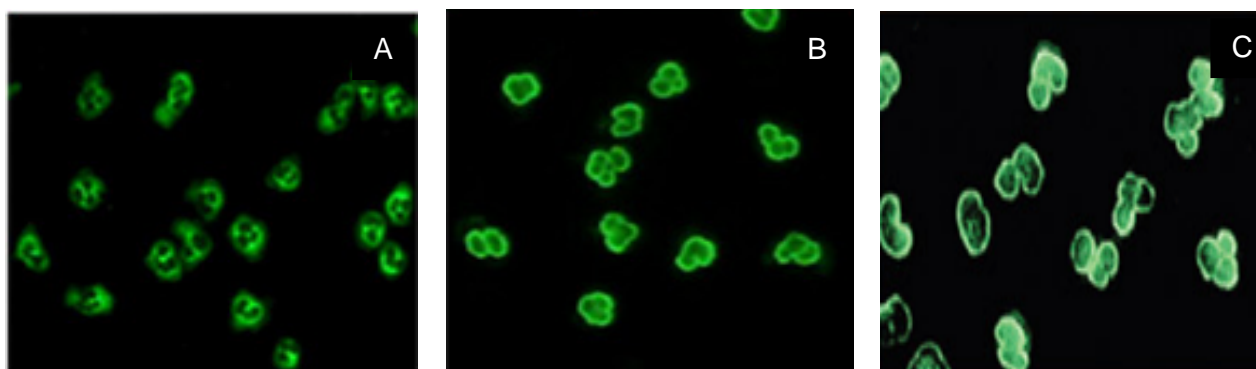
A pesquisa do ANCA foi realizada por IFI, utilizando Kit comercial (WAMA Diagnóstica, Brasil). O substrato da reação é constituído por neutrófilos humanos fixados com etanol (Quadro 3).

O método consiste na ligação dos anticorpos ANCA quando presentes no soro humano ao substrato. Os anticorpos não ligados são removidos por lavagem, enquanto que os ligados, de classe IgG, são revelados por antigamaglobulina G humana marcada com isotiocianato de fluoresceína. Basicamente tem-se uma incubação inicial das amostras (diluição 1:10) e controles com o substrato por 30 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente. Lava-se com PBS durante 10 minutos. Acrescenta-se uma gota da antigamaglobulina em cada amostra e incubase novamente durante 30 minutos nas mesmas condições. Após lavagem (10 minutos), remove-se o excesso de PBS e aplica-se glicerina tamponada entre as áreas reativas. Cobre-se com lamínula e a leitura é realizada em microscópio de fluorescência (aumento: 400X e 1000X; Olympus, Japão).

Os possíveis padrões de ANCA a serem observados são o padrão citoplasmático (c-ANCA) dirigido contra a proteinase 3 (serina protease) existente nos grânulos primários dos neutrófilos, que apresenta fluorescência granular difusa típica no citoplasma das células, e o padrão perinuclear (p-ANCA) dirigido contra a

proteína mieloperoxidase existente nos grânulos primários dos neutrófilos, com fluorescência perinuclear. Tem-se ainda o padrão perinuclear atípico (p-ANCA atípico), caracterizado por fluorescência citoplásmica granulosa fina mais intensa ao redor do núcleo (CABRAL, MISZPUTEN e CATAPANI, 2004; Figura 24). As leituras foram realizadas por três observadores independentes, sendo consideradas positivas as amostras que caracterizaram fluorescência a partir da diluição 1/10.

FIGURA 24 – PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA DO ANCA



NOTAS: A) c-ANCA; B) p-ANCA; C) p-ANCA atípico

4.3.4 Pesquisa de autoanticorpos relacionados ao prognóstico das DAI hepáticas

Dentre os autoanticorpos relacionados ao prognóstico das DAI hepáticas foram analisados os anticorpos anti-GP 210 e o anti-centrômero.

4.3.4.1 Pesquisa do anticorpo anti-glicoproteína 210 (anti-GP 210)

Os anticorpos anti-GP 210 foram investigados nas amostras de soro por ensaio de imunoabsorção ligado à enzima (ELISA, Figura 25-A), utilizando kit comercial (Inova Diagnostics Inc., San Diego, CA, USA), para detecção semi-quantitativa de anticorpos anti-GP210.

A reação consiste em diluir as amostras 1:101 e aplicar 100 µl de cada amostra e controles aos micropoços de poliestireno revestidos com antígeno purificado. Incubar durante 30 minutos em temperatura ambiente. Após a incubação, faz-se a lavagem com a solução de lavagem diluída (solução tampão salina Tris e

Tween 20) num total de três repetições, invertendo a placa na última lavagem em papel absorvente para retirar todo o líquido residual. Adiciona-se 100 µl do conjugado HRP HS IgG em cada poço, os quais são novamente lavados após incubação de 30 minutos. A seguir acrescenta-se 100 µl do cromógeno tetrametilbenzidina (TMB) em cada poço, incuba-se no escuro por 30 minutos e adiciona-se a solução de bloqueio (ácido sulfúrico 0,344 M). Homogeneiza-se suavemente e procede-se a leitura em leitor de ELISA (Organon Teknika Reader 530 version 1,24) a 450 nm de densidade óptica (Figura 25-B).

A reatividade para cada amostra é calculada pela divisão da média da absorbância da amostra pela média da absorbância do controle baixo positivo. O resultado é multiplicado pelo número de unidades encontradas no controle baixo positivo.

$$\text{Valor da amostra (unidades)} = \frac{\text{absorbância amostra}}{\text{absorbância controle baixo positivo}} \times \text{valor do controle baixo positivo (unidades)}$$

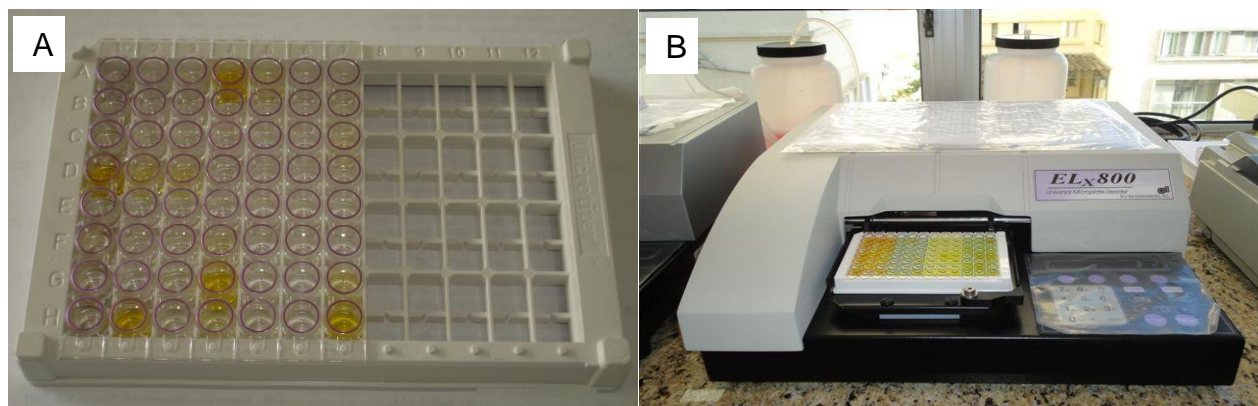
Os resultados das amostras são classificados como negativo, não conclusivos e positivos, de acordo com os dados sugeridos pelo fornecedor, conforme especificado na Tabela 2.

TABELA 2 – INTERPRETAÇÃO DO ANTI-GP210 DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS

RESULTADO	UNIDADES
Negativa	<20
Não conclusiva	20,1 – 24,9
Positiva	≥25

FONTE: *kit Inova Diagnostics Inc., (San Diego, USA)*

FIGURA 25 – PLACA DE ELISA E LEITOR DE ELISA

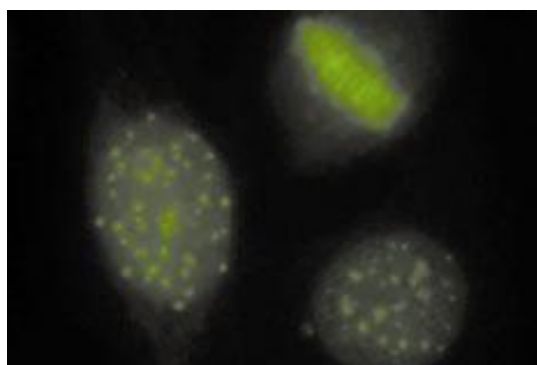


FONTE: A autora (2011).

4.3.4.2 Pesquisa do anticorpo anti-centrômero

A detecção do anticorpo anti-centrômero foi realizada através da análise dos padrões da fluorescência obtidos na investigação do FAN-HEp-2, por IFI, conforme descrito no item 4.3.3.2. O padrão de fluorescência nuclear centromérico caracteriza a presença do anticorpo anti-centrômero (Figura 26), de acordo com o Consenso Brasileiro FAN-HEp-2 (DELLAVANCE et al., 2002).

FIGURA 26 – FAN-HEp-2: PADRÃO DE FLUORESCÊNCIA NUCLEAR PONTILHADO CENTROMÉRICO



FONTE: I Consenso Brasileiro FAN HEp-2

LEGENDA: Nucleoplasma da célula em interfase, apresentando-se pontilhado com um número constante de 46 pontos. Nucléolo normalmente não fluorescente, célula em divisão apresenta concentração dos pontos na placa metafásica. Citoplasma não fluorescente.

4.3.5 Pesquisa de autoanticorpos relacionados às co-morbididades nas DAI hepática

Todas as amostras de soros dos pacientes e controles em estudo foram investigadas para dois grupos de autoanticorpos relacionados às possíveis co-morbididades: os autoanticorpos órgão específico e os sistêmicos.

4.3.5.1 Pesquisa de autoanticorpos órgão específico

Dentre os autoanticorpos órgão específico foram analisados o anticorpo EmA-IgA e o anti-tTG, relacionados ao diagnóstico de doença celíaca, bem como o anti-CGP, relacionado ao diagnóstico de gastrite atrófica e anemia perniciosa.

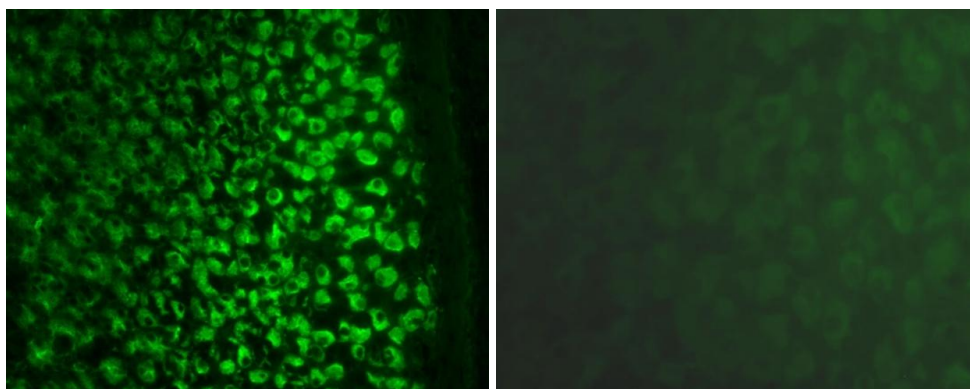
As determinações do anti-CGP e EmA-IgA foram realizadas por técnica de IFI, enquanto do anticorpo anti-tTG foi por ELISA.

4.3.5.1.1 Pesquisa do anticorpo anti-célula gástrica parietal (anti-CGP)

A reação de IFI para a pesquisa do anti-CGP é similar àquela descrita no item 4.3.3.1 e foi realizada de acordo com BIGAZZI, ROSE (1984). Cortes criostáticos de estômago de rato foram empregados como substrato na reação (Quadro 3), sendo consideradas como positivas as reações com títulos iguais ou superiores a 1:40.

O anticorpo anti-CGP tem como antígeno alvo as subunidades α e β da adenosina trifosfatase gástrica H/K (ATPase) e cora o citoplasma das células parietais da mucosa gástrica fúndica (Figura 27).

FIGURA 27 – IFI PARA O ANTICORPO anti-CGP



Reação positiva

Reação negativa

4.3.5.1.2 Pesquisa de anticorpos anti-endomísio (EmA-IgA)

O EmA-IgA foi investigado nas amostras de soros por técnica de IFI, utilizando como substrato cortes criostáticos de cordão umbilical humano, conforme descrito por LADINSER, ROSSIPAL E PITTSCHIELER (1994).

Preparo dos substratos

O cordão umbilical é obtido de gestantes saudáveis no momento do parto, atendidas no Centro Obstétrico do Hospital de Clínicas da UFPR. Após a excisão do cordão, um pequeno fragmento deste é mergulhado em solução salina 0,9% e transportado ao Laboratório de Imunopatologia, onde é seccionado, transversalmente, em pequenos blocos. Esses são mergulhados em OCT-Tissue Tek (Miles, USA) e rapidamente congelados em nitrogênio líquido, sendo então mantidos à temperatura de -80°C. São realizados cortes criostáticos de 3 µm de espessura (Reichert Histostat, USA), os quais são colocados sob lâminas de vidro e mantidos à -20°C até o momento de uso nas reações de IFI.

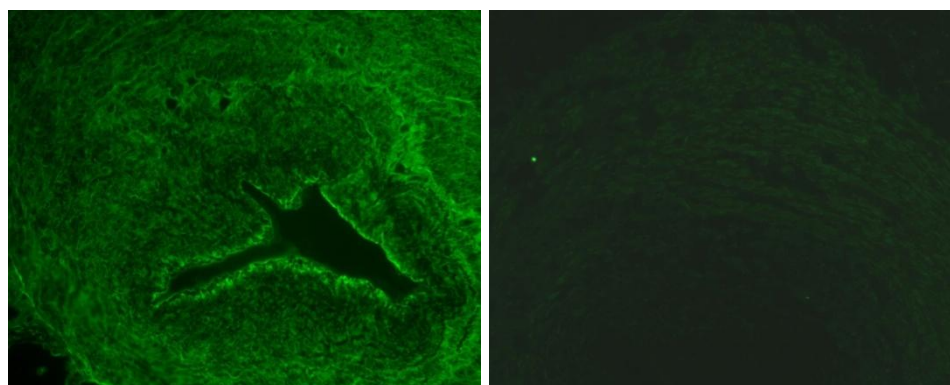
Reação de Imunofluorescência Indireta

As amostras de soro em estudo foram submetidas a diluição inicial de triagem (1:2,5), em tampão PBS, pH 7,2, e aplicadas sobre as lâminas contendo o substrato. Após incubação em câmara úmida (30 minutos, 20°C-26°C) e lavagem das lâminas com PBS (3 vezes, 5 minutos cada vez), os cortes foram cobertos com o conjugado fluorescente anti-IgA humano (GMK, Porto Alegre, RS), previamente titulado. Procedeu-se nova incubação e lavagem das lâminas seguida de montagem com lamínula e glicerina alcalina.

As leituras foram realizadas em microscópio de fluorescência (aumento: 400X e 1000X; Olympus, Japão), por três observadores independentes, sendo consideradas positivas as amostras que caracterizaram fluorescência a partir da diluição 1/2,5, no tecido endomisial (substância intermiofibrilar) que contorna as fibras de músculo liso na parede dos vasos e artérias do cordão umbilical (Figura

28). Todos os soros positivos nas diluições iniciais de triagem foram retestados para definição do título final de anticorpos. Controles positivos e negativos foram incluídos em cada bateria de testes.

FIGURA 28 – IFI PARA O ANTICORPO EmA-IgA



Reação positiva

Reação negativa

4.3.5.1.3 Pesquisa do anticorpo anti-transglutaminase (anti-tTG)

Todas as amostras de soro em estudo foram investigadas por ELISA, utilizando kits comerciais (Inova Diagnostics Inc., San Diego, CA, USA), para detecção semi-quantitativa de anticorpos anti-tTG.

A técnica é semelhante à realizada no item 4.3.4.1, adequando somente o conjugado utilizado para esta reação. O cálculo dos resultados também segue o mesmo padrão da reação citada, pois são Kits de mesma procedência.

Os resultados das amostras são classificados como negativo, fracamente positivo, moderada ou fortemente positivo, de acordo com os dados sugeridos pelo fornecedor, conforme especificado na Tabela 3.

TABELA 3 – INTERPRETAÇÃO DO ANTI-TTG DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS

RESULTADO	UNIDADES
Negativa	<20
Fracamente positiva	20 – 30
Moderada a Fortemente positiva	>30

FONTE: *kit* Inova Diagnostics Inc., (San Diego, USA)

4.3.5.2 Pesquisa de autoanticorpos sistêmicos

Dentre os autoanticorpos voltados às associações com co-morbidades autoimunes sistêmicas tais como lúpus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjögren, esclerodermia e artrite reumatóide, entre outras, foram analisadas nas amostras de soro dos pacientes o FAN e o anticorpo anti-dsDNA por IFI, o anticorpo anti-cromatina, perfil ENA e anti-CCP por ELISA, e FR por aglutinação em látex.

4.3.5.2.1 Pesquisa do FAN e do anticorpo anti-dsDNA

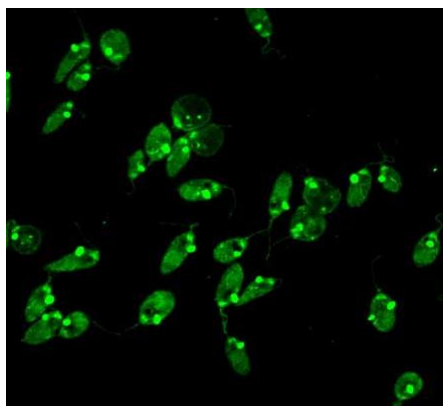
A pesquisa do FAN encontra-se previamente descrita no item 4.3.3.2 e foi realizada em todas as amostras de pacientes e controles.

Para a realização da pesquisa do anti-dsDNA foi utilizada metodologia de IFI, empregando-se Kit comercial (Viro-Immun Labor-Diagnostika GmbH, Germany). A reação consiste na utilização de espécie flagelada *Crithidia lucilliae*, a qual possui cinetoplasto, órgão específico de armazenamento de DNA em grandes concentrações. A fluorescência do cinetoplasto indica alta especificidade para a presença de anticorpos para o dsDNA nas amostras positivas (Figura 29).

A técnica consiste em incubar a amostra diluída (título 1:10) e os controles durante 30 minutos a temperatura ambiente. Lavar com tampão PBS. Tirar o excesso do PBS e adicionar o conjugado FITC anti-humano (IgG). Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente, no escuro. Repetir o processo de lavagem. Fazer a contra coloração adicionando 5 gotas de azul de Evans em 100 ml de PBS, mergulhar a lâmina por 5 minutos na solução, retirar o excesso e montar a lâmina com glicerina e lamínula. Leitura em microscópio de fluorescência (aumento: 400X e 1000X; Olympus, Japão), por três observadores independentes.

O anticorpo anti-dsDNA foi pesquisado apenas nos pacientes e controles que apresentaram reação positiva para o FAN-HEp-2, com padrão de fluorescência nuclear.

FIGURA 29 – IFI PARA O ANTI-dsDNA



4.3.5.2.2 Pesquisa do anticorpo anti-cromatina

Todas as amostras de soro dos pacientes foram avaliadas por ELISA, utilizando kits comerciais (Inova Diagnostics Inc., San Diego, CA, USA), para detecção semi-quantitativa de anticorpos anti-cromatina. No grupo controle foram testadas apenas amostras positivas para o FAN-HEp-2, com padrão de fluorescência nuclear.

A metodologia empregada e cálculos das concentrações correspondem àquelas já descritas no item 4.3.4.1 para o anticorpo anti-GP210, pois se tratam de Kits da mesma procedência.

Os resultados das amostras foram classificados como negativo, moderado ou fortemente positivo, de acordo com os dados sugeridos pelo fornecedor, conforme especificado na Tabela 4.

TABELA 4 – INTERPRETAÇÃO DO ANTI-CROMATINA DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS

RESULTADO	UNIDADES
Negativa	<20
Moderado positiva	20 – 60
Fortemente positiva	>60

FONTE: *kit* Inova Diagnostics Inc., (San Diego, USA)

4.3.5.2.3 Pesquisa dos anticorpos anti-antígenos nucleares extraíveis (Perfil ENA)

Todas as amostras de pacientes em estudo foram avaliadas para o perfil ENA.

Este consiste em um teste de ELISA destinado a investigação dos autoanticorpos da classe IgG, contra os antígenos nucleares extraíveis.

Para a realização do teste foi utilizado Kit comercial (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Germany), que permite fazer a triagem de seis diferentes anticorpos (ENA-6): anti Sm, RNP, SS-A/Ro, SS-B/La, Jo e Scl-70. A técnica consiste em aplicar 100 µl da amostra diluída, soros controles e calibradores na placa, e incubar durante 30 minutos à temperatura ambiente. Lavar 3 vezes com a solução de lavagem (PBS, NaN₃<0,1%, concentrado 50x). Aplicar 100 µl do conjugado enzimático (antisoro policlonal anti-h-IgG de coelho marcado com peroxidase em matriz PBS/BSA) em cada poço. Incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente. Lavar novamente 3 vezes. Aplicar 100 µl de solução de TMB em cada cavidade. Incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente. Adicionar 100 µl de solução de paragem (ácido hidrocloreídrico), deixar repousar durante 5 minutos. A leitura da densidade óptica é realizada a 450 nm no leitor de ELISA (Organon Teknika Reader 530 version 1,24).

O cálculo dos resultados é feito dividindo a densidade óptica da amostra pela densidade óptica do cut-off. As amostras que apresentarem densidade óptica maior do que o cut-off são consideradas positivas. De acordo com o fornecedor são consideradas positivas as amostras que obtiveram resultados maiores que 1,2 de acordo com a Tabela 5.

TABELA 5 – INTERPRETAÇÃO DO PERFIL ENA DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS

RESULTADO	UNIDADES
Negativo	<1,0
Borderline (zona cinzenta)	1,0 – 1,2
Positivo	>1,2

FONTE: kit ORGENTEC Diagnostika GmbH (Germany)

4.3.5.2.4 Teste confirmatório dos anticorpos anti Sm, RNP, SS-A/Ro, SS-B/La

As amostras positivas para o perfil ENA foram confirmadas para a presença dos anticorpos anti-Sm, anti-RNP, anti-SS-A/Ro e anti-SS-B/La, através da reação de ELISA, utilizando kit comercial (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Germany). A técnica empregada e cálculos das concentrações são similares aos descritos no item 4.3.5.2.3.

Os resultados obtidos foram transformados em unidades, sendo assim foram consideradas amostras positivas quando encontrado valor maior ou igual a 25.

4.3.5.2.5 Pesquisa do anticorpo anti-citrulina (anti-CCP)

A pesquisa dos anticorpos anti-CCP foi realizada em todas as amostras em estudo, através de reação de ELISA, conforme a metodologia já descrita no item 4.3.4.1, por se tratar de Kit da mesma procedência (Inova Diagnostics Inc., San Diego, CA, USA). Os cálculos para obter as concentrações também estão descritas naquele item.

Os resultados das amostras foram classificados como negativo, fraco, moderado ou fortemente positivo, de acordo com os dados sugeridos pelo fornecedor, conforme especificado na Tabela 6.

TABELA 6 – INTERPRETAÇÃO DO ANTI-CITRULINA DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS

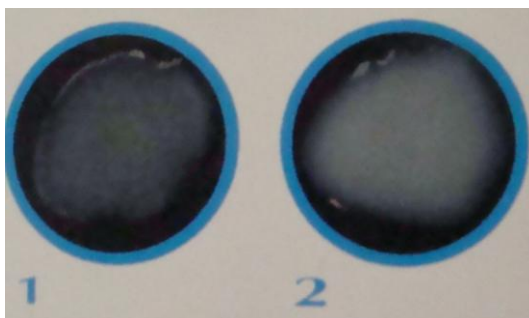
RESULTADO	UNIDADES
Negativo	<20
Fraco positivo	20 – 39
Moderado positivo	40 – 59
Forte positivo	≥60

FONTE: *kit* Inova Diagnostics Inc., (San Diego, USA)

4.3.5.2.6 Pesquisa do Fator Reumatóide (FR)

O FR foi investigado nas amostras em estudo através da técnica de aglutinação por látex. Esta se baseia na reação entre o FR presente nos soros teste e as partículas de látex de poliestireno sensibilizados por IgG humana. Com a adsorção passiva de IgG às partículas do látex, ocorre exposição dos determinantes de IgG que reagem com o FR, resultando em uma reação de aglutinação (Figura 30). Na placa de precipitação se adicionam volumes iguais de soro e látex sensibilizado, homogeneiza-se por agitação, durante 2 minutos. São consideradas positivas as amostras com nítida aglutinação, as quais são então diluídas em cloreto de sódio 0,9% para definição do título final da reação. Controles positivos e negativos são incluídos em cada bateria de reação.

FIGURA 30 – REAÇÃO DE LÁTEX PARA O FR



LEGENDA: 1 – Reação positiva; 2 – Reação negativa.

FONTE: A autora.

4.3.6 Correlação clínico-laboratorial

Os dados clínicos e demográficos dos pacientes foram avaliados e compilados através dos questionários aplicados no momento da coleta de sangue, bem como de dados obtidos nos prontuários médicos dos mesmos. Esses dados foram submetidos às análises visando associações com os dados laboratoriais obtidos nas determinações séricas dos autoanticorpos investigados na pesquisa.

4.3.7 Análise dos dados

Os resultados obtidos no presente estudo foram organizados na forma de planilhas, tabelas e/ou gráficos e foram associados com parâmetros clínicos e demográficos dos indivíduos em estudo. As análises e associação foram realizadas através de tabelas de contingência 2x2, aplicando-se os testes do qui-quadrado com correção de Yates ou teste exato de Fisher, quando adequados. Também por tabela de contingência foi empregado o programa (RXC) que utiliza o Algoritmo Metrópolis para obter uma estimativa sem viés do valor de p . As comparações entre médias foram feitas através do teste de Kruskal-Wallis. O coeficiente de correlação de Spearman foi realizado para determinar a significância de correlação entre variáveis e para conhecer a sua magnitude. O teste de Kappa também foi utilizado para verificar a concordância e discordância entre as variáveis. Para auxiliar as análises foram utilizados os programas Statistica 5.5 (StatSoft), SPSS Statistics, Prism 4.0 (GraphPad Software) e RXC. Valores de p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência das DAI hepáticas no Brasil ainda é desconhecida.

O presente estudo apresenta caráter pioneiro na população brasileira. A análise conjunta dos dados obtidos através de amplo painel de autoanticorpos poderá conduzir a uma nova forma de interpretar e valorizar a presença de cada marcador sorológico.

Tais dados, aliados aos aspectos clínicos e histopatológicos, poderão levar a uma real contribuição na história natural da doença de cada um dos pacientes individualmente.

As informações relativas às DAI de fígado dos pacientes, dados demográficos como idade ao diagnóstico e duração da doença, entre outras, encontram-se no apêndice 1.

Os resultados obtidos na investigação dos anticorpos AML, AMA, anti-LKM, FAN, ANCA e anti-GP-210 nos pacientes, assim como dos demais autoanticorpos avaliados, encontram-se relacionados nos Apêndices 1 e 2 respectivamente. As informações sobre co-morbidades prévias, etilismo, tabagismo, DAI na família e tratamento, entre outras, podem ser obtidas no apêndice 3. Os dados referentes aos soros controles estão demonstrados no Apêndice 4.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE PACIENTES EM ESTUDO

Foram estudados 60 pacientes portadores de doença hepática autoimune. Dentre esses, 71,7% (43/60) eram do sexo feminino e 28,3% (17/60) do sexo masculino (Gráfico 1), com idade variando de 19 a 72 anos (média 42,7 anos; mediana 43 anos) no momento da coleta de sangue (Apêndice 1 e tabela 7). Desses, 21,7% (13/60) apresentavam-se na faixa etária entre 19-30 anos, 68,3% (41/60) entre 31-60 anos e 10% (6/60) acima de 60 anos (Gráfico 2).

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA DE ACORDO COM O SEXO

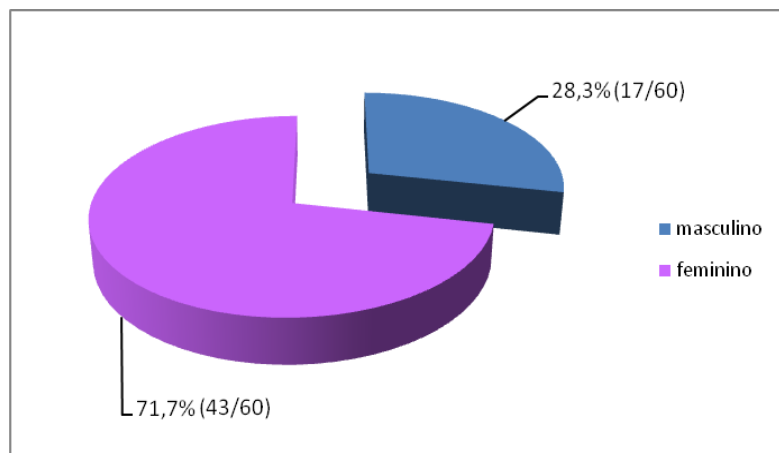
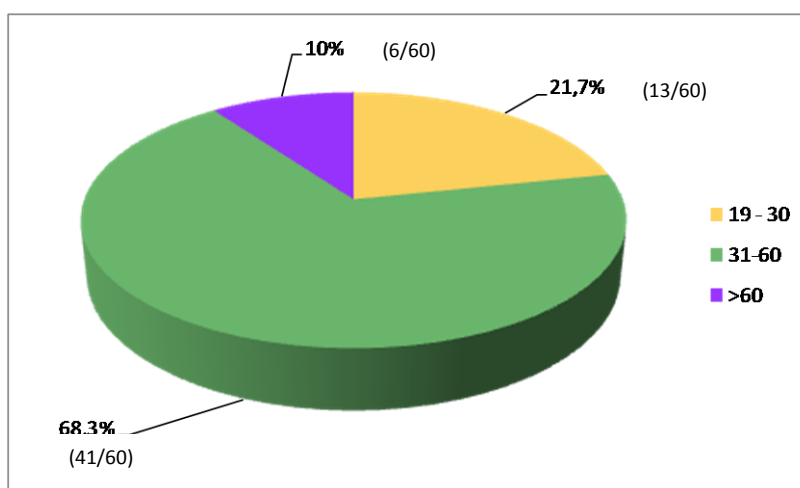
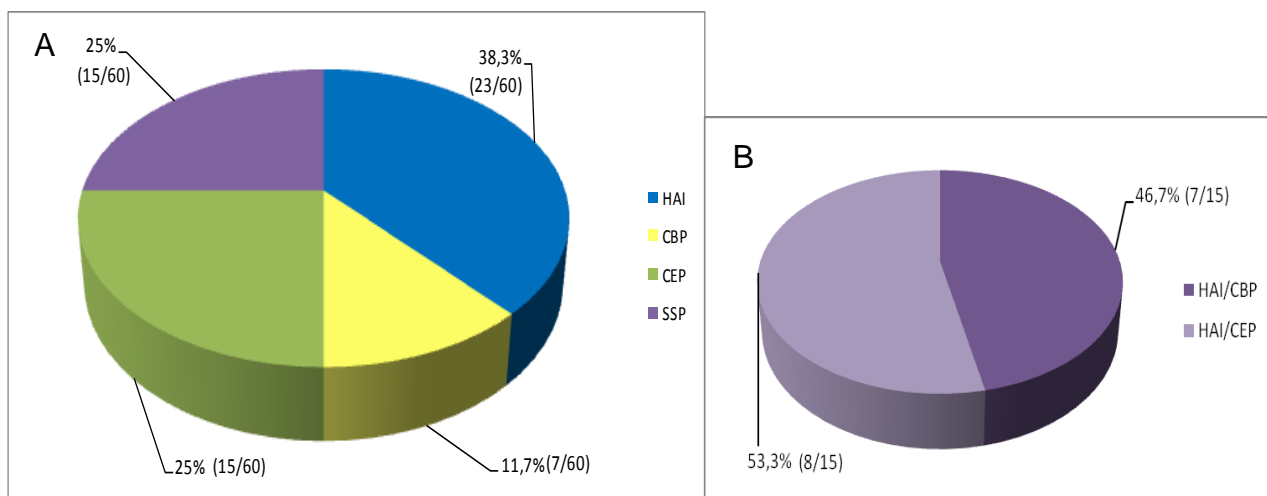


GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM AS FAIXAS ETÁRIAS



De acordo com o diagnóstico das DAI hepáticas, a população de pacientes em análise compreende 38,3% (23/60) com HAI, 11,7% (7/60) com CBP, 25% (15/60) com CEP e 25% (15/60) com SSP, como pode ser observado no Gráfico 3-A. Na SSP (N=15) tem-se 46,7% (7/15) dos pacientes com HAI e CBP e 53,3% (8/15) com HAI e CEP (Gráfico 3-B).

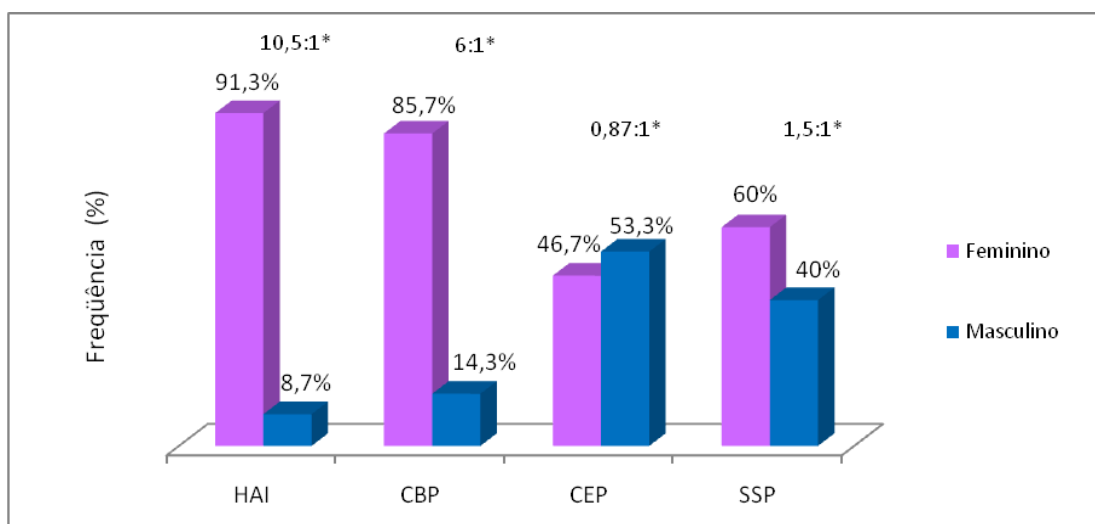
GRÁFICO 3 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI HEPÁTICAS NOS PACIENTES



NOTA: HAI: hepatite autoimune; CBP: cirrose biliar primária; CEP: colangite esclerosante primária; SSP: síndrome de sobreposição

No gráfico 4 tem-se a distribuição dos pacientes em cada grupo de DAI em relação ao sexo, evidenciando-se uma proporção entre o sexo feminino e masculino de 10,5:1 na HAI, de 6:1 na CBP, de 0,87:1 na CEP e de 1,5:1 na SSP.

GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI HEPÁTICAS EM RELAÇÃO AO SEXO DOS PACIENTES



NOTA: * PROPORÇÃO ENTRE SEXO FEMININO E MASCULINO

Os dados demográficos dos pacientes foram coletados através do questionário e/ou análise de prontuários e podem ser observados detalhadamente na Tabela 7.

TABELA 7 – DADOS DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA E CONTROLES

Grupos em estudo	Número	Sexo	Idade média (faixa etária)	Mediana (anos)
Pacientes	60	43F; 17M	42,7 (19-72)	43
HAI	23	21F; 2M	41,1 (19-63)	43
CBP	7	6F; 1M	47,3 (25-61)	49
CEP	15	7F; 8M	47,1 (21-72)	45
SSP	15	9F; 6M	38,7 (19-54)	40
HAI + CBP	7	5F; 2M	40,9 (32-54)	40
HAI + CEP	8	4F; 4M	36,7 (19-54)	36,5
Controles	100	72F; 28M	40 (16-75)	37

NOTA: HAI: hepatite autoimune; CBP: cirrose biliar primária; CEP: colangite esclerosante primária; SSP: síndrome de sobreposição; F= feminino; M= masculino

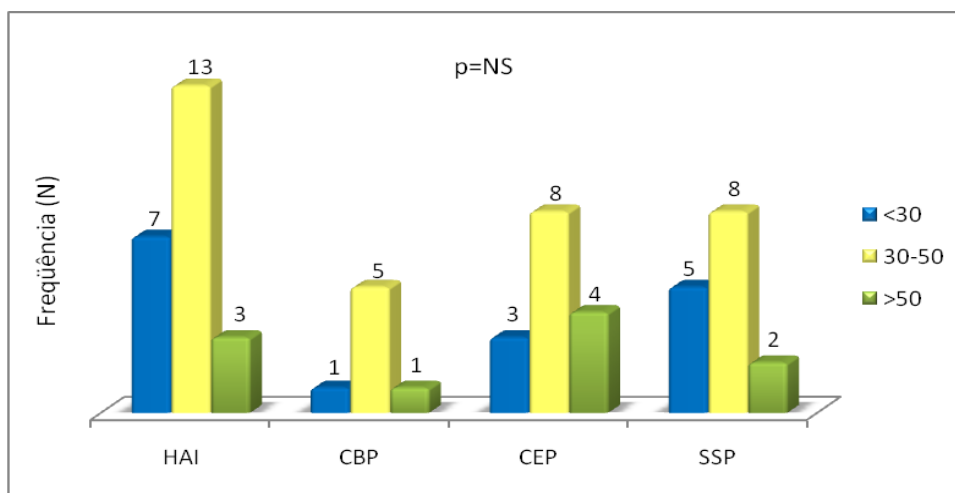
Visando análises e associações clínicas posteriores foram levantados dados referentes à idade de início da doença (<30 anos, 30 a 50 anos e >50 anos), duração da doença (0 a 2 anos, >2 a 10 anos e >10 anos), sintomas articulares, alterações gastrointestinais, uso de álcool e tabaco, concomitância de outras DAI, presença de alguma DAI na família, tratamento atual, entre outros. Estes dados podem ser observados nos Apêndices 1 e 3 e/ou Tabela 8.

A distribuição dos pacientes em cada grupo de DAI em relação à idade de início da doença e à duração da doença pode ser observada nos gráficos 5 e 6, respectivamente. Embora na população total de pacientes e em cada grupo de DAI predominem os pacientes com idade de início da doença entre 30 a 50 anos, não se observa diferença significativa entre os pacientes de cada grupo em relação a este aspecto. Em relação à duração da doença tem-se aumento com tendência a significância ($p=0,058$) apenas na frequência de pacientes com duração de 0-2 anos com SSP, comparado aos pacientes com HAI.

TABELA 8 – DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS DOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA

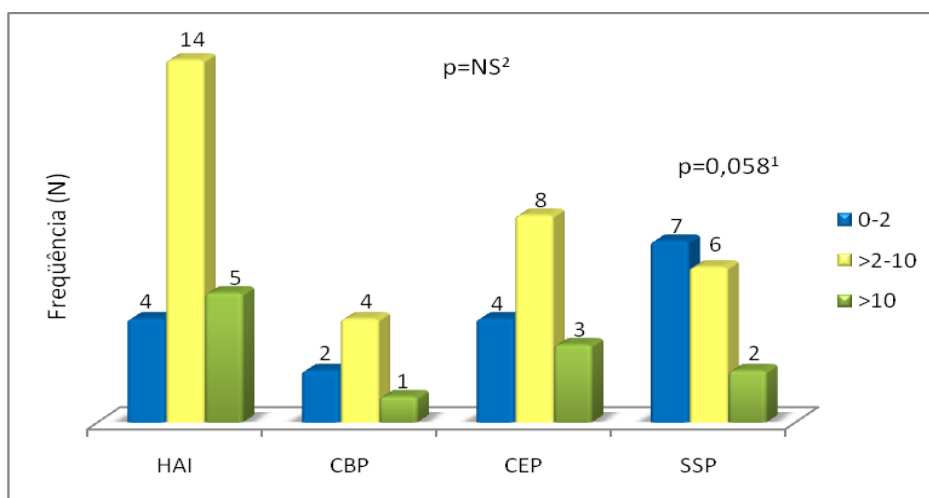
	PACIENTES % (N)
Idade de início da doença	
<30 anos	26,7 (16/60)
30 a 50 anos	56,7 (34/60)
>50 anos	16,6 (10/60)
Duração da doença	
0 a 2 anos	28,3 (17/60)
>2 a 10 anos	53,3 (32/60)
>10 anos	18,4 (11/60)
Sintomas articulares	63,3 (38/60)
Alterações gastrointestinais	85 (51/60)
Outras DAI concomitantes	41,7 (25/60)
DAI na família	15 (9/60)
Etilismo	13,3 (8/60)
Tabagismo	13,3 (8/60)

GRÁFICO 5 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI HEPÁTICAS EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA



NOTA: p=NS para todos os grupos

GRÁFICO 6 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI HEPÁTICAS EM RELAÇÃO À DURAÇÃO DA DOENÇA



NOTA: ¹HAI 0-2 anos x SSP 0-2 anos: p= 0,058

²p=NS para todos os demais grupos

O número de pacientes em estudo (N=60) constitui na íntegra o total de indivíduos com DAI do fígado que compõe o Ambulatório de Hepatologia do HC-UFPR.

A escassez de relatos similares avaliando os quatro grupos de DAI hepática simultaneamente dificulta a comparação da frequência destes pacientes em relação a outras populações. No entanto, é possível sugerir que aspectos genéticos e geográficos particularizam o número de pacientes em cada doença, como se observa no Japão, onde KOGA et al. (2008) e ONOZUKA et al. (1996) relatam maior número de casos de CBP (N=73 e N=44) do que HAI (N=55 e N=8), respectivamente, em contraste aos dados do presente estudo (CBP=7 e HAI=23). FELD e HEATHCOTE, 2003 (Canadá), por sua vez, corroboram as características observadas na nossa população de pacientes.

Observa-se que estudos com número elevado de pacientes freqüentemente restringem-se a uma ou duas hepatopatias autoimunes especificamente e resultam de coletas por longo período de tempo e/ou de análises multicêntricas (RECKTENWALD, 2003; ORELLANA et al., 2005; ZUBER; ALTORJAY et al., 2010).

Em específico para a SSP tem-se no estudo proporção similar de HAI/CBP (46,7%) e HAI/CEP (53,3%; Gráfico 3-B). Esta frequência, no contexto total de pacientes com HAI, caracteriza 18,4% e 21% de SSP respectivamente. Tais dados diferem da literatura, na qual se tem como SSP de maior frequência a HAI/CBP (8 a

10%) em relação à HAI/CEP (6%), reforçando a forte influência de fatores genéticos e ambientais no desenvolvimento dessas doenças em nosso meio (FRICHE-PASSOS, MEDEIROS, 2001; RUST, BEUERS, 2008; ARULPRAKASH et al., 2010).

No aspecto demográfico, a análise em relação ao gênero caracterizou no total de pacientes a proporção de 2,5:1 (43♀/17♂). No entanto, separadamente para cada DAI a distribuição acompanha os dados mundiais (Tabela 7 e Gráfico 4), que demonstram predomínio do sexo feminino na CBP (90%) e na HAI (8♀:1♂), e do masculino na CEP (1♀:2♂) (CANÇADO, 1999; ARON, 2009; MIELI-VERGANI et al., 2009; SELMI, 2009). Em relação à distribuição por faixas etárias (Tabela 7), estas acompanham de maneira geral as características demonstradas na literatura, demonstrando a idade média mais elevada nos pacientes com CBP e CEP (47,3 e 47,1 anos respectivamente) e menor nos pacientes com SSP e HAI (38,7 e 41,1 anos respectivamente) (ARON, 2009; MIELI-VERGANI et al., 2009; MURATORI et al., 2009; SELMI, 2009).

Por sua vez, a idade de início da doença predomina entre 30 a 50 anos nos quatro grupos de pacientes (Gráfico 5), embora tanto na HAI como na SSP aproximadamente 33% dos indivíduos tenham começado a doença mais jovens (<30 anos), similar aos achados descritos por RUST e REUERS, 2008. O aumento com significância na SSP em relação à HAI no tempo de duração da doença (0-2 anos; Gráfico 6) mostra a importância de monitorar os mesmos de maneira frequente, visando detectar possíveis sobreposições precocemente, nas situações em que achados clínicos e histológicos ainda são sutis ou não estabelecidos previamente.

5.2 AUTOANTICORPOS RELACIONADOS AO DIAGNÓSTICO DAS DAI HEPÁTICAS

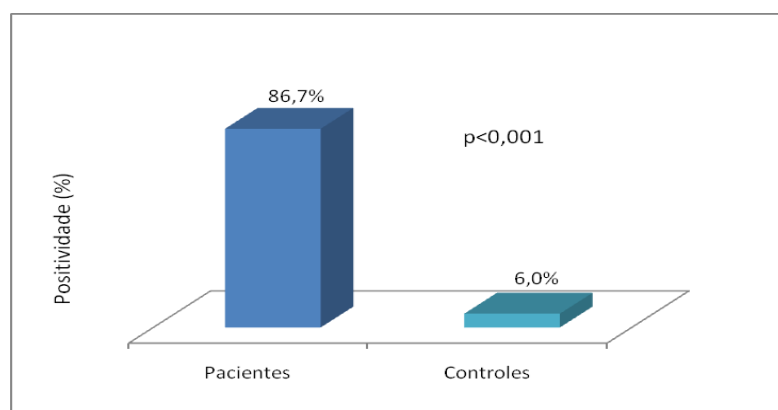
5.2.1 Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com DAI hepática

A análise dos autoanticorpos relacionados ao diagnóstico das DAI hepáticas (AML, AMA, anti-LKM, FAN e ANCA) nos 60 pacientes em estudo, mostrou que 86,7% (52/60) desses foram positivos para pelo menos um dos anticorpos avaliados. No grupo controle a positividade total detectada foi de 6% (6/100), evidenciando-se

diferença significativa entre ambos os grupos, como pode ser observado no Gráfico 7 ($p < 0,001$).

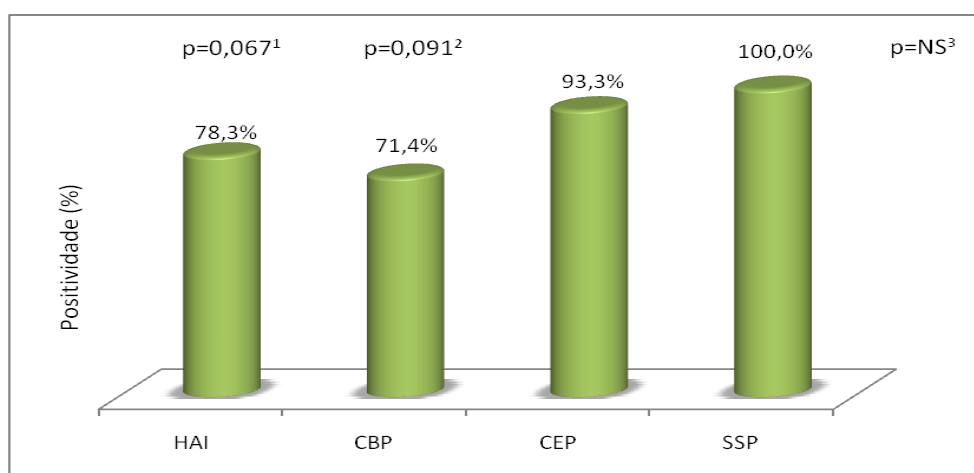
Avaliando especificamente cada DAI hepática, a positividade total de anticorpos foi: HAI=78,3% (18/23), CBP=71,4% (5/7), CEP=93,3% (14/15) e SSP=100% (15/15), como caracterizado no Gráfico 8. A comparação entre os grupos de pacientes destaca a maior frequência de anticorpos na SSP em relação à HAI ($p=0,067$) e à CBP ($p=0,091$), com tendência à significância. Não houve diferença significativa entre os demais grupos.

GRÁFICO 7 – POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTOANTICORPOS NAS DAI HEPÁTICAS



NOTA: * Pacientes x controles: $p < 0,001$
Teste de Fisher

GRÁFICO 8 – POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTOANTICORPOS EM CADA DAI HEPÁTICA



NOTA: ¹ HAI x SSP: $p=0,067$

² CBP x SSP: $p=0,091$

³ HAI x CBP; HAI x CEP; CBP x CEP: $p=NS$

Teste de Fisher

A significativa diferença de positividade entre pacientes e controles é pertinente considerando que os anticorpos em análise constituem um amplo painel de marcadores de doença, sendo o grupo controle composto apenas de indivíduos saudáveis (ONOUKA et al., 1996; KOGA ET AL., 2008). Neste contexto justifica-se ainda a alta positividade de anticorpos em cada hepatopatia, com destaque para a SSP (100%), considerando ser composta pela combinação HAI/CBP ou HAI/CEP.

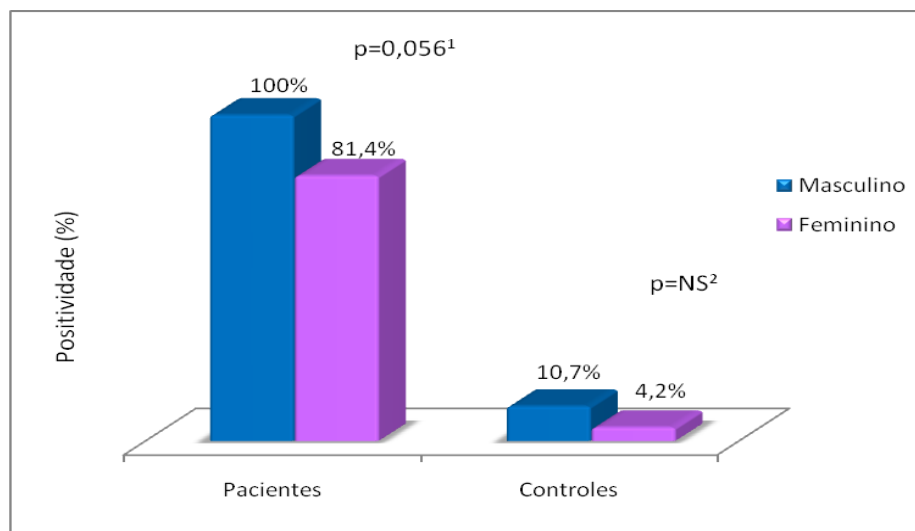
5.2.1.1 Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com DAI hepática em relação ao sexo

A análise dos anticorpos nos 60 pacientes em estudo mostrou positividade de 81,4% (35/43) no sexo feminino e 100% (17/17) no masculino, caracterizando aumento na positividade com tendência à significância nos homens ($p=0,056$). No grupo controle ($N=100$), 4,2% (3/72) das mulheres foram positivas para pelo menos um dos anticorpos avaliados, em relação a 10,7% (3/28) dos homens ($p=NS$; Gráfico 9).

Considerando a proporção de distribuição dos pacientes em relação ao sexo em cada DAI, conforme caracterizado no Gráfico 4, a análise dos anticorpos evidenciou positividade no sexo feminino em relação ao masculino na proporção de 8:1 na HAI, 4:1 na CBP, 0,75:1 na CEP e 1,5:1 na SSP, respectivamente.

Em síntese, a positividade dos anticorpos foi alta em ambos os sexos. A análise dos dados mostra que mesmo diante de doenças com predomínio no sexo feminino, a positividade de anticorpos nos homens pode ser similar ou significativamente superior à das mulheres, permitindo alertar ao clínico a valorizar todos os sinais e sintomas apresentados pelo paciente.

GRÁFICO 9 – POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS DE ACORDO COM O SEXO DOS PACIENTES



NOTA: ¹ Pacientes sexo masculino x feminino: $p=0,056$

² Controles sexo masculino x feminino: $p=NS$

Teste de Fisher

5.2.1.2 Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com DAI hepática em relação à idade e ao tempo de duração da doença

Dentre os pacientes positivos para os autoanticorpos ($N=52$), a faixa etária no momento da coleta do sangue variou entre 19 e 71 anos. A idade média desses foi de $42,88 \pm 13,1$ anos (mediana 43,5 anos). Nos 6 indivíduos positivos do grupo controle a idade variou entre 25 a 73 anos, com média de $55,3 \pm 17$ anos (mediana 55,5 anos), com aumento tendendo a significância em relação aos pacientes ($p=0,07$). O Gráfico 10 permite observar a distribuição homogênea dos pacientes positivos em relação à faixa etária, evidenciando-se maior concentração de positividade entre 40 e 50 anos de idade, que se explica pelo maior número de pacientes com essas idades.

Não houve diferença significativa entre os grupos avaliados (Gráfico 11-A) na análise da distribuição da frequência dos anticorpos em relação à positividade nas faixas etárias de 19-30 (84,6%; 11/13), entre 31-60 (87,8%; 36/41) e acima de 60 anos (83,3%; 5/6). O pequeno número de indivíduos positivos no grupo controle ($N=6$) não permitiu análise similar entre os mesmos.

Em relação à idade de início da doença, dentre os pacientes com idade inferior a 30 anos no momento do diagnóstico 81,2% (13/16) foram positivos para pelo menos um dos anticorpos avaliados, entre 30 a 50 anos 88,2% (30/34) e acima de 50 anos 90% (9/10), não se detectando significância estatística nas análises (Gráfico 11-B).

Nos pacientes cuja doença tenha duração inferior a 2 anos houve um aumento significativo ($p=0,039$) na positividade dos autoanticorpos em comparação aqueles pacientes com duração da doença superior a 2 anos (>2-10 anos). Nos pacientes com a doença com mais de 10 anos a positividade foi de 90,9% e não diferiu significativamente dos outros grupos (Gráfico 12).

GRÁFICO 10 – HISTOGRAMA DE DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DOS AUTOANTICORPOS EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA

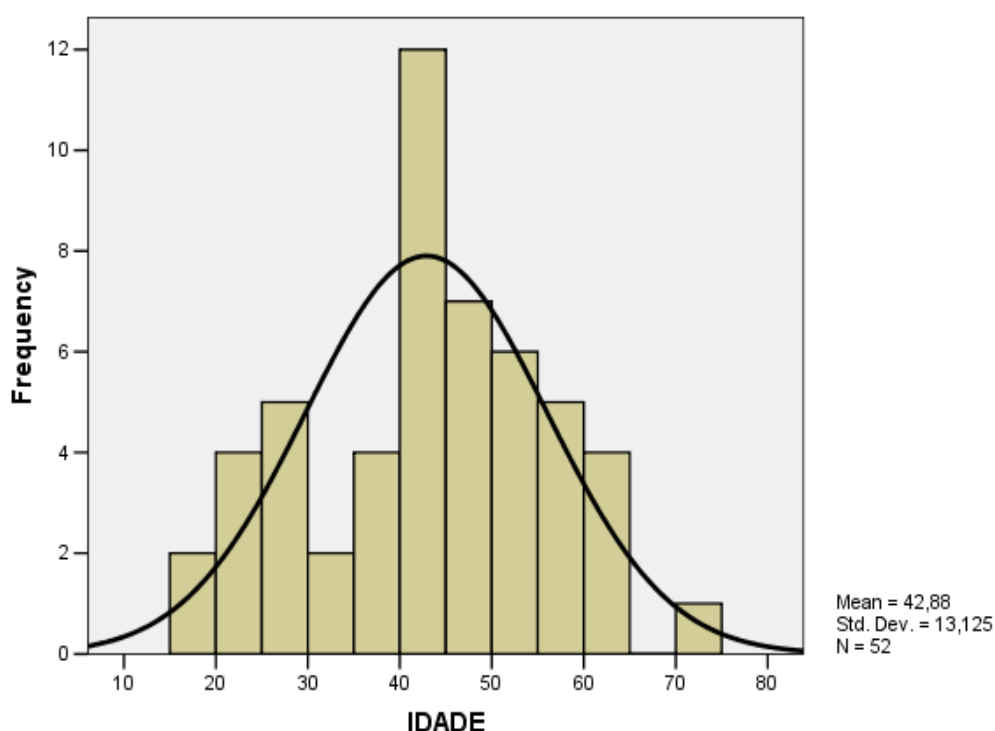
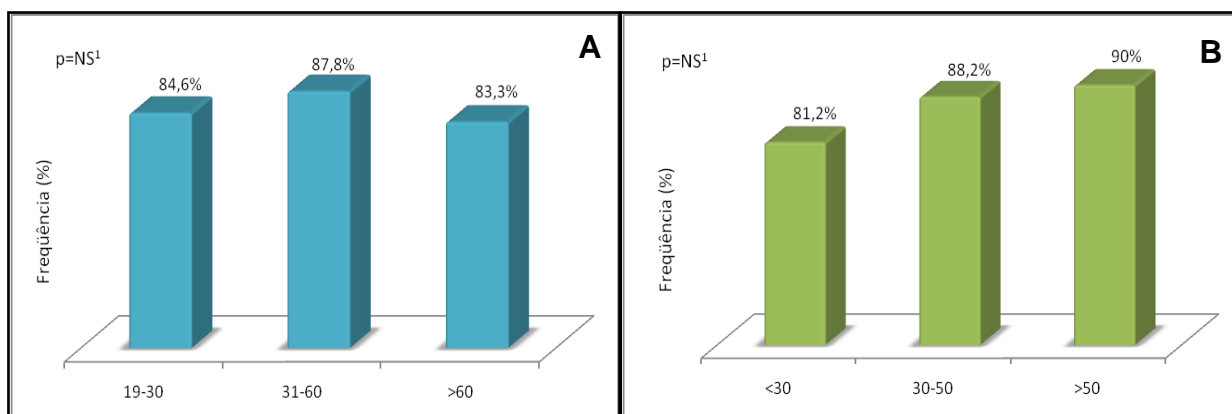


GRÁFICO 11 – POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA (A) E COM A IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA (B)

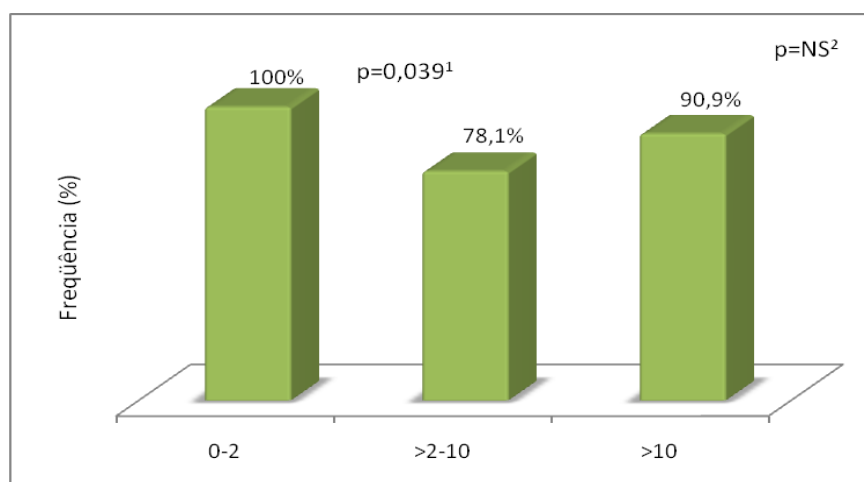


NOTA: A: ¹ 19-30 anos x 31-60 anos; 19-30 anos x >60 anos; 31-60 anos x >60 anos: p=NS

B: ¹ <30 anos x 30-50 anos; <30 anos x >50 anos; 30-50 anos x >50 anos: p=NS

Teste de Fisher

GRÁFICO 12 – POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS DE ACORDO COM A DURAÇÃO DA DOENÇA



NOTA: ¹ Duração de doença 0-2 anos x >2-10 anos: p= 0,039

² Duração de 0-2 anos x >10 anos; duração de >2-10 anos x >10 anos: p=NS

Teste de Fisher

Os resultados mostram que a idade média dos pacientes positivos (42,9 anos) acompanha a da população total de pacientes em estudo (42,7 anos) e difere, com tendência a significância (p=0,07), da idade média dos indivíduos positivos do grupo controle (55,3 anos). Os achados são pertinentes com o aparecimento natural de autoanticorpos em indivíduos saudáveis, de faixa etária mais elevada, sendo na maioria das vezes sem relevância clínica e relacionados à própria senescência do sistema

imune (MANAVALAN et al., 1998). Por sua vez, os dados mostram a importância da investigação dos anticorpos independente da faixa etária e da idade de início de doença do paciente, considerando a elevada positividade detectada em ambos os casos (Gráfico 11 A/B). Estes sugerem ainda a necessidade de avaliação precoce dos anticorpos, decorrente da significativa diferença na frequência obtida na faixa de 0-2 anos de duração de doença, podendo a diminuição na faixa >2-10 ser devido à inserção da terapia medicamentosa. Não foram encontrados relatos similares na literatura que permitam a comparação com os dados obtidos no estudo. Observa-se ainda que ao longo da evolução da doença, quando testados novamente, alguns autoanticorpos permanecem positivos durante tratamento e fase de compensação da doença.

5.2.1.3 Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com DAI hepática em relação ao etilismo e tabagismo

Dentre os 60 pacientes em estudo, 8 (13,3%) são etilistas (5♀, 3♂; média de idade: 37,1 anos) e 8 (13,3%) são tabagistas (7♀, 1♂; média de idade: 42,5 anos). Entre esses, 2 (3,3%) são etilistas e tabagistas simultaneamente. Entre os etilistas, 3 apresentam HAI, 0 CBP, 3 CEP e 2 SSP, enquanto entre os tabagistas tem-se 2 com HAI, 1 com CBP, 1 com CEP e 4 com SSP. A positividade de anticorpos nos etilistas foi de 87,5% (7/8: 2 AML, 1 AMA, 4 FAN e 5 ANCA), assim como nos tabagistas (87,5%; 7/8: 3 AML, 7 AMA, 5 FAN e 4 ANCA). Alguns pacientes apresentam mais de um anticorpo simultaneamente.

Não houve diferença significativa entre os pacientes etilistas e/ou fumantes com anticorpos positivos para aqueles pacientes não etilistas e/ou não fumantes com anticorpos positivos ($p=NS$). O baixo número de pacientes etilistas e/ou fumantes pode ter influenciado nos resultados da análise.

De acordo com HOHENESTER et al.(2009), o tabaco é fator de risco e acelera a progressão da CBP. No grupo em estudo, apenas 1 paciente tabagista apresenta CBP, o que não possibilita uma análise comparativa. Uma paciente tabagista com SSP (HAI/CEP) será reavaliada clínica e histopatologicamente para SSP de HAI/CBP, por apresentar positividade para o anticorpo anti-gp210,

relacionado ao prognóstico de falência hepática na CBP, como será discutido no item 5.3.

5.2.2 Positividade dos autoanticorpos AML, AMA, anti-LKM, FAN e ANCA em pacientes com DAI hepática

No Gráfico 12 tem-se a distribuição dos autoanticorpos AML, AMA, anti-LKM, FAN e ANCA no total dos pacientes (N=60) e controles avaliados (N=100). A distribuição desses anticorpos em cada DAI hepática separadamente será mostrada no item 5.2.3.

Dentre os pacientes, 15% (9/60) apresentaram positividade para o anticorpo AML, com títulos variando entre 1:40 e 1:160; 40% (24/60) para o AMA (títulos 1:20 a 1:1280); 55% (33/60) para o FAN (títulos 1:80 a 1:10240) e 63,3% (38/60) para o ANCA. Todos os pacientes foram negativos para o anti-LKM.

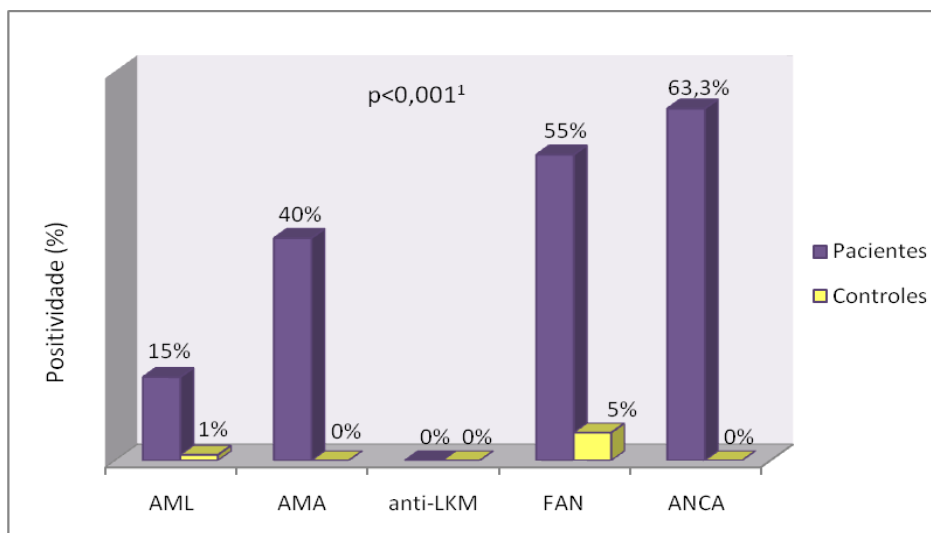
O padrão de fluorescência de ANCA caracterizado em 100% (38/38) das amostras foi o perinuclear atípico (p-ANCA atípico; apêndice 1).

No total de pacientes, 56,7% (34/60) foram positivos para mais de um anticorpo simultaneamente.

Em relação ao grupo controle, o AML foi positivo em 1% (1/100; título 1:40) dos indivíduos e o FAN em 5% (5/100; títulos 1:80 a 1:320). O AMA e o anti-LKM foram negativos em todas as amostras (0%; 0/100), assim como o ANCA (0%; 0/70). Diferença significativa na positividade entre pacientes e controles foi caracterizada tanto para o AML, como para o AMA, FAN e ANCA ($p < 0,001$; Gráfico 13).

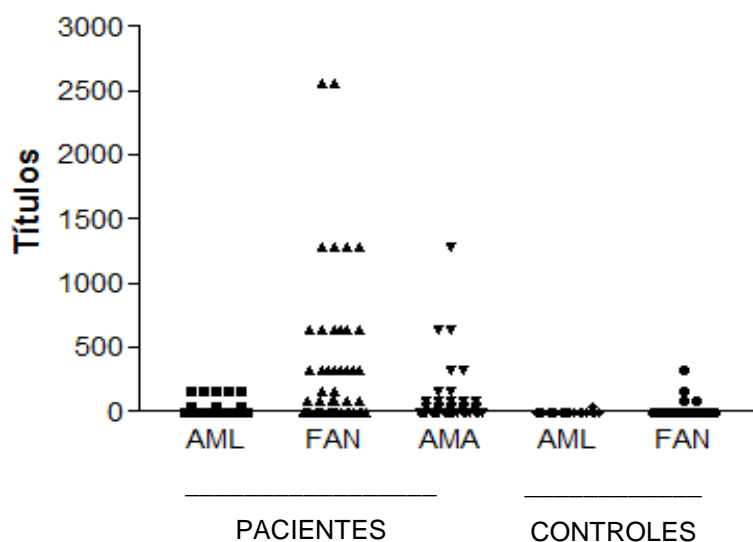
O Gráfico 14 ilustra a distribuição dos títulos de anticorpos nos pacientes positivos para AML (N=9), AMA (N=24) e FAN (N=33), bem como nos indivíduos positivos do grupo controle (AML=1; FAN=5).

GRÁFICO 13 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS AML, AMA, LKM, FAN e ANCA EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA E CONTROLES



NOTA: ¹ AML pacientes x controles: $p < 0,001$
 AMA pacientes x controles: $p < 0,001$
 FAN pacientes x controles: $p < 0,001$
 ANCA pacientes x controles: $p < 0,001$
 Teste de Fisher

GRÁFICO 14 – DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTICORPOS EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICAS E CONTROLES



A positividade e os títulos dos anticorpos relacionados ao diagnóstico das DAI do fígado dos pacientes em estudo diferiram significativamente da população sadia, o que vem ao encontro de relatos nas diversas populações mundiais, ressaltando o

papel dos mesmos como marcadores de doença (ORELLANA et al., 2005; MURATORI et al., 2009; BOGDANOS, KOMOROWSKI, 2011). Tais dados corroboram os estudos em pacientes com outras DAI distintas das do fígado, como doença celíaca, esclerodermia e artrite reumatóide, que mostram a presença destes anticorpos em frequência marcadamente menor, inclusive nos grupos controles (UTIYAMA et al., 2001, SKARE et al., 2011; GOELDNER et al., 2011a).

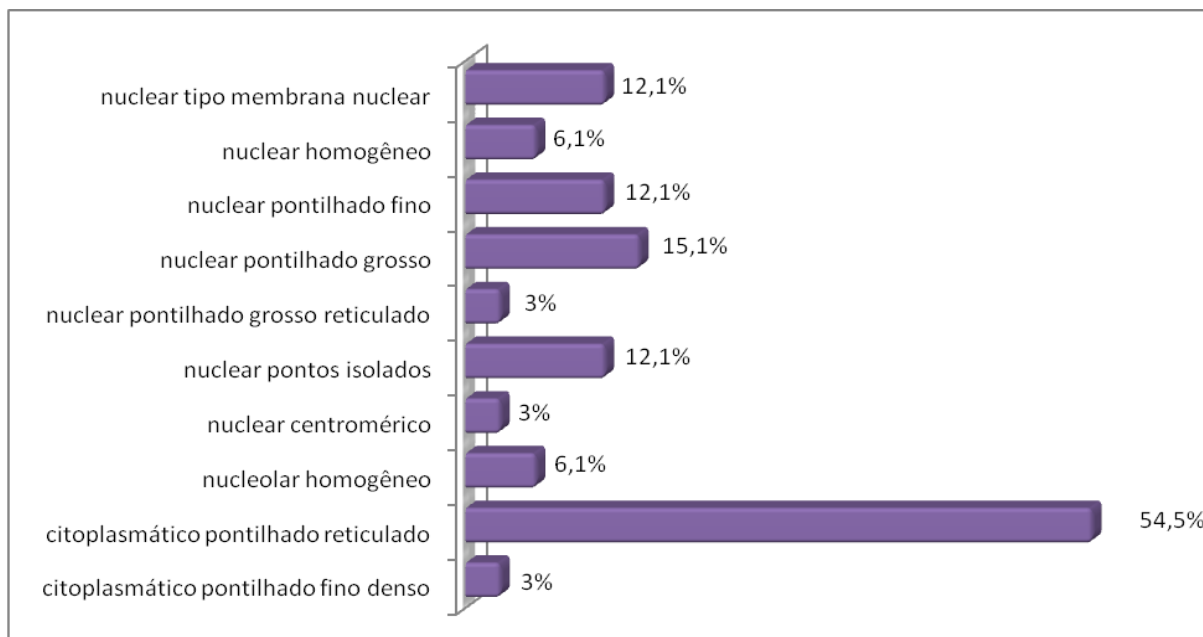
Estes anticorpos serão abordados especificadamente para cada doença quanto à sua relevância clínica e frequência nos itens 5.2.3.1 ao 5.2.3.4.

5.2.2.1 Padrões de FAN nos pacientes com DAI hepática

Dentre os 33 pacientes positivos para o FAN, 39,4% (13/33) apresentaram padrão nuclear de fluorescência, 36,4% apresentaram padrão citoplasmático (12/33) e 24,2% (8/33) mostraram concomitância entre padrão nuclear e citoplasmático. Dois pacientes com padrão nucleolar foram contados juntamente com o padrão nuclear. O Gráfico 15 detalha a frequência dos padrões encontrados nesses pacientes, bem como o apêndice 1. A caracterização desses padrões em cada DAI hepática separadamente será demonstrada no item 5.2.3 (Tabela 9) e 5.2.3.1 (Quadro 5).

No grupo controle, os 5 indivíduos positivos para o FAN apresentaram padrão nuclear de fluorescência (3 nuclear pontilhado fino denso e 2 nuclear pontilhado grosso). Até o momento nenhum destes indivíduos apresentou sintomas relacionados às DAI de fígado ou reumáticas, que também apresentam forte relação com o FAN.

GRÁFICO 15 – FREQUÊNCIA DOS PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA DO FAN-HEP-2 NOS PACIENTES



NOTA: Padrões de fluorescência de acordo com os Consensos Brasileiros de FAN-HEp-2 (DELLAVANCE et al., 2002, 2003, 2009)

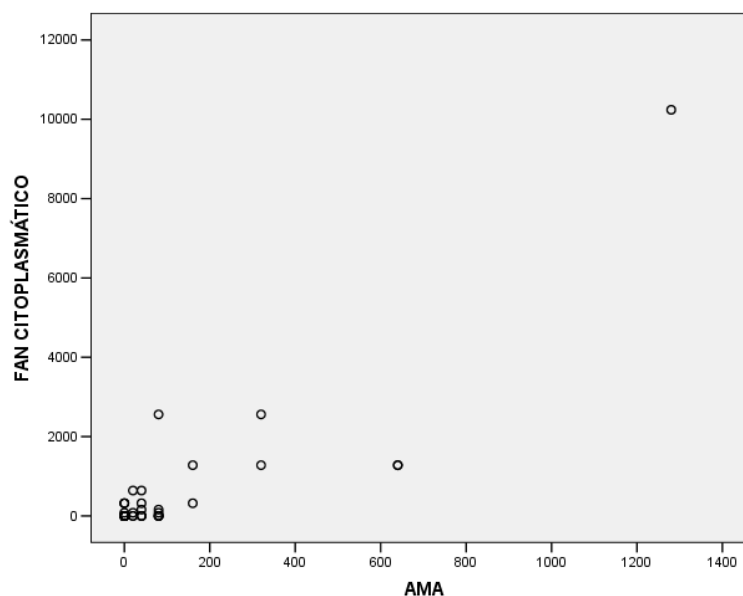
De acordo com o Consenso Brasileiro de FAN-HEp-2 os padrões de fluorescência possuem características e relevância clínica que direcionam o diagnóstico das DAI hepáticas e do colágeno, entre outras, como também demonstrado em diferentes estudos (TEUFEL et al., 2009). O padrão nuclear tipo membrana nuclear e homogêneo apresentam associação com HAI, assim como o citoplasmático pontilhado reticulado, nuclear pontilhado centromérico e nuclear pontos isolados possuem com a CBP (BLOCH et al., 2005; BOGDANOS, KOMOROWSKI, 2011). Estes padrões e os demais citados no Gráfico 15, também apresentam importante associação com doenças do colágeno, sendo comentados com detalhes no item 5.4.

5.2.2.2 Correlação entre os anticorpos AMA e FAN padrão citoplasmático pontilhado reticulado em pacientes com DAI hepática

Considerando a relevância clínica do AMA e do FAN padrão citoplasmático pontilhado reticulado no diagnóstico das DAI hepáticas, mais especificamente da

CBP, a correlação entre ambos foi avaliada no total das amostras em análise. Foram aplicados o teste de correlação de Spearman (não paramétrico) e o teste de concordância de Kappa. De acordo com estes, tem-se uma correlação significativa entre os anticorpos avaliados, com $R=0,636$ (coeficiente de correlação; $p<0,001$; Gráfico 16) e $K=0,532$ (coeficiente de concordância; $p<0,001$), respectivamente.

GRÁFICO 16 – CORRELAÇÃO ENTRE O AMA E FAN CITOPLASMÁTICO PONTILHADO RETICULADO EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA



NOTA: Teste de correlação de Spearman: $R=0,636$; $p<0,001$

No Quadro 4 tem-se a síntese da análise comparativa título por título em relação ao AMA e FAN nos 60 pacientes em estudo.

QUADRO 4 – COMPARAÇÃO DOS TÍTULOS DOS ANTICORPOS AMA E FAN CITOPLASMÁTICO NOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA

		FAN CITOPLASMÁTICO								Total
		0	80	160	320	640	1280	2560	10240	
AMA	0	32	1		3					36
	20	2	1			1				4
	40	3		1	1	1				6
	80	4	1	1				1		7
	160				1		1			2
	320						1	1		2
	640						2			2
	1280								1	1
Total		41	3	2	5	2	4	2	1	60

A investigação de mais de um anticorpo concomitante para algumas DAI tem constituído uma ferramenta diagnóstica que aumenta a confiabilidade dos resultados e a acurácia do diagnóstico. De maneira geral a positividade concomitante para ambos os autoanticorpos eleva significativamente o risco de diagnóstico para a doença. É fundamental que o laboratório estabeleça, para as suas condições de trabalho, a correlação entre os anticorpos de interesse, que vai permitir conhecer a magnitude da relação entre ambos.

A correlação obtida para o AMA e FAN citoplasmático pontilhado reticulado mostrou, de forma pioneira, alta significância ($r=0,636$; $p<0,001$) nos 60 pacientes com DAI do fígado em estudo (Gráfico 16). Estes achados podem ter real contribuição para outros serviços que trabalhem com diagnóstico de hepatopatias autoimunes. Foi possível observar que as discordâncias entre os testes ocorrem predominantemente nos títulos mais baixos (Quadro 4). A aplicação e interpretação das informações obtidas nessas análises serão discutidas nos itens relacionadas às associações clínico-laboratoriais (5.2.3.1 a 5.2.3.4).

Estudos similares em outras DAI demonstram a aplicabilidade e relevância no uso dessa estratégia diagnóstica. GOELDNER et al. (2010), encontrou correlação altamente significativa entre o anti-CCP e FR em pacientes com AR e familiares ($r=0,43$; $p<0,0001$), enquanto KOTZE et al (2003) e NASS et al. (2011) estabeleceram correlação entre o EmA-IgA e anti-tTG-IgA em pacientes com DC ($r=0,797$, $p<0,001$) e familiares ($r=0,86196$, $p<0,0001$) respectivamente, na população do sul do Brasil.

5.2.3 Anticorpos AML, AMA, anti-LKM, FAN e ANCA na HAI, CBP, CEP e SSP

Considerando a positividade dos anticorpos em análise nos 60 pacientes (AML: 15%, AMA: 40%, anti-LKM: 0%, FAN: 55% e ANCA: 63,3%; Gráfico 13), tem-se detalhada na Tabela 9 a positividade de cada um desses, distribuídos especificamente em cada grupo de doença hepática, cuja relevância clínica será discutida nos sub-itens a seguir.

TABELA 9 – FREQUÊNCIA DOS AUTOANTICORPOS NAS HEPATOPATIAS AUTOIMUNES

ANTICORPOS/DAÍ	HAI %(N)	CBP %(N)	CEP %(N)	SSP %(N)	CONTROLE % (N)
AML	17,4 (4/23)	14,3 (1/7)	0 (0/15)	26,7 (4/15)	1 (1/100)
AMA	34,8 (8/23)	71,4 (5/7)	13,3 (2/15)	60 (9/15)	0 (0/100)
anti-LKM	0 (0/23)	0 (0/7)	0 (0/15)	0 (0/15)	0 (0/100)
ANCA	52,2 (12/23)	28,6 (2/7)	86,7 (13/15)	73,3 (11/15)	0 (0/70)
FAN	56,5 (13/23)	71,4 (5/7)	20 (3/15)	80 (12/15)	5 (5/100)
FAN NUCLEAR	26,1 (6/23)	57,1 (4/7)	20 (3/15)	53,3 (8/15)	5 (5/100)
FAN CITOPL.	30,4 (7/23)	57,1 (4/7)	6,7 (1/15)	46,7 (7/15)	0 (0/100)

NOTA: FAN CITOPL: FAN padrão citoplasmático

Dentre os pacientes com HAI 56,5% (13/23) apresentaram mais de 1 auto-anticorpo simultaneamente, enquanto para a CBP 71,4% (5/7), para a CEP 26,7% (4/15) e para a SSP 80% (12/15).

Na Tabela 10, tem-se os dados demográficos dos pacientes positivos para pelo menos um anticorpo (N=52), detalhados em cada DAI hepática separadamente (HAI: 18/23; CBP: 5/7; CEP: 14/15; SSP: 15/15).

TABELA 10 – DADOS DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES POSITIVOS PARA ANTICORPOS NAS HEPATOPATIAS AUTOIMUNES

PACIENTES/ DADOS	HAI (N=18)	CBP (N=5)	CEP (N=14)	SSP (N=15)	P
Sexo ♀	16	4	6	9	0,03*
Sexo ♂	2	1	8	6	
Idade média (faixa etária)	41,7 (19-63)	53,2 (44-61)	45,3 (21-71)	38,7 (19-54)	NS**
19-30 anos	5	0	2	4	NS*
31-60 anos	11	4	10	11	
>60 anos	2	1	2	0	
IID (média)	35,2 (12-62)	47,8 (42-58)	40,1 (17-61)	34,4 (9-53)	NS**
<30 anos	5	0	3	5	NS*
30-50 anos	10	4	8	8	
>50 anos	3	1	3	2	
TTD (média)	6,5 (0-15)	5,4 (0-11)	5,1 (0-12)	4,3 (0-13)	NS**
0-2 anos	4	2	4	7	NS*
>2-10 anos	10	2	7	6	
>10 anos	4	1	3	2	

NOTA: *Programa RXC

**Kruskal-Wallis

♀: sexo feminino; ♂: sexo masculino

IID: idade início da doença

TTD: tempo de duração da doença

Em um subgrupo de 38 pacientes, tem-se a frequência dos anticorpos antes e após o tratamento das hepatopatias autoimunes (Tabela 11). Tais dados viabilizarão algumas considerações nos sub-itens a seguir sobre a possível influência deste nos níveis de anticorpos detectados.

TABELA 11 – COMPARAÇÃO DOS ANTICORPOS ANTES E APÓS O TRATAMENTO

FASE/ANTICORPOS	AML % (N)	AMA % (N)	LKM % (N)	FAN % (N)
Pré-tratamento	34,2 (13/38)	21 (8/38)	2,6 (1/38)	65,8 (25/38)
Pós-tratamento	10,5 (4/38)	42,1 (16/38)	0 (0/38)	52,6 (20/38)
p*	0,01	0,04	NS	NS

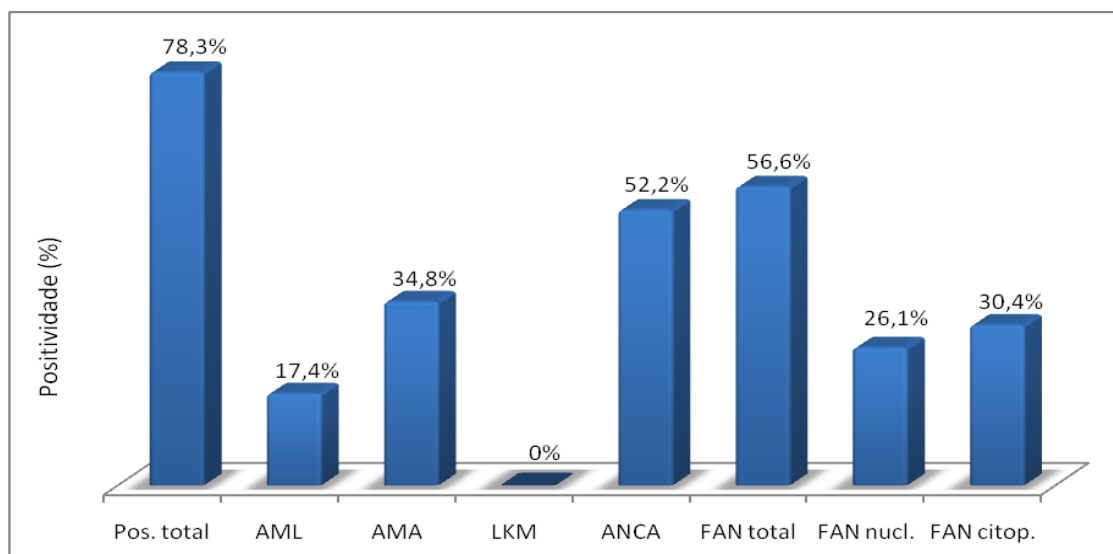
NOTA: *Teste de Fisher

5.2.3.1 Autoanticorpos na HAI: associação clínico-laboratorial

No total de 23 pacientes com HAI, a positividade de anticorpos foi 78,3% (18/23; Gráfico 8), sendo que 13 desses apresentaram mais de um anticorpo simultaneamente (56,5%). Os dados demográficos dos pacientes com HAI positivos para pelo menos um dos anticorpos analisados (N=18) encontram-se na Tabela 10, e corroboram com dados descritos na literatura. A proporção de positividade para o sexo feminino e masculino acompanha a distribuição da amostragem. Destaca-se menor média de idade de início da doença nestes pacientes, justificado pelas duas faixas etárias de seu aparecimento (CANÇADO, 1999). Por sua vez, o tempo médio de duração de doença mais prolongado, embora sem significância estatística, reflete maior sobrevida dos mesmos, aliado ao diagnóstico melhor estabelecido e acessível, que minimiza suas consequências. É possível ainda estar envolvido o fato da HAI ser uma das primeiras DAI descritas (STRASSBURG, 2010).

O Gráfico 17 ilustra a positividade dos anticorpos relacionados ao diagnóstico em pacientes com HAI demonstrados na tabela 9.

GRÁFICO 17 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS NA HAI



NOTA: Pos. total: positividade total; FAN nucl.: FAN nuclear; FAN citop.: FAN citoplasmático

Os marcadores sorológicos da HAI (AML e FAN padrão nuclear) foram detectados em 17,4% (4/23) e 26,1% (6/23) dos pacientes, respectivamente. Os baixos índices desses anticorpos podem estar relacionados ao efeito imunossupressor do tratamento (Tabela 11), considerando-se que 7 outros pacientes, positivos para o AML ao diagnóstico, bem como 6 positivos para o FAN, negataram seus anticorpos na determinação atual. CZAJA (2010) relatou que os anticorpos podem aparecer e desaparecer durante a doença, não podendo ser diretamente associados com outros dados laboratoriais e índices de inflamação do fígado, e não servem para monitorar a doença.

No Quadro 5 tem-se o detalhamento dos padrões de FAN-HEp-2 em cada hepatopatia. Dos 6 pacientes positivos para o FAN com padrão nuclear (26,1%), 2 apresentaram o padrão tipo membrana nuclear e 1 homogêneo, compatíveis com a HAI (DELLAVANCE et al., 2009), e demonstrado por outros autores (MACKAY, 2008; TEUFEL et al., 2009). Os demais padrões nucleares detectados (pontilhado grosso e pontilhado fino) relacionam-se a outras co-morbidades e serão comentados no decorrer do item 5.4.3. Dentre os 7 pacientes com FAN padrão citoplasmático (30,4%; 7/23), 5 são citoplasmático pontilhado reticulado (título 1:80 a 1:1280) e são positivos concomitantes com o AMA (títulos 1:20 a 1:640), assim como 1 paciente com padrão citoplasmático fino denso (título 1:40).

Ainda neste contexto, dentre os 8 pacientes com HAI positivos para o AMA (34,8%; 8/23), apenas 2 se mostraram negativos para o FAN (títulos 1:20 e 1:40). A

correlação de Spearman, altamente significativa entre AMA e FAN citoplasmático pontilhado reticulado ($r=0,636$; $p<0,001$; Gráfico 16), bem como a tabulação cruzada dos títulos desses anticorpos (Quadro 4), corroboram os resultados obtidos e a importância de avaliar sobreposição com CBP nos 5 pacientes com HAI positivos concomitantemente para tais anticorpos (ARULPRAKASH, 2010). Para o paciente positivo apenas para o FAN citoplasmático pontilhado reticulado e negativo para o AMA recomenda-se, à princípio, seguimento sorológico periódico. Os outros 2 pacientes somente com o AMA positivo, estão de acordo com a literatura, já que este anticorpo pode estar presente em até 20% na HAI (MUZZILLO, FUKUDA, HAYAKAWA, 2001; CZAJA, 2011). Estes serão acompanhados clínica e sorologicamente.

A Tabela 12 relaciona os pacientes com HAI cujos marcadores sorológicos sugerem reavaliação e/ou acompanhamento clínico/histopatológico para verificar possível SSP (Nº 1 a 5).

Uma paciente com HAI teve 2 amostras de sangue coletadas, com intervalo de 6 meses entre cada coleta. Por apresentar AMA 1:20 na primeira determinação e FAN citoplasmático pontilhado reticulado positivo (1:640) na segunda amostra, essa foi incluída na relação a ser re-avaliada clínica e histologicamente para SSP (Tabela 12; Nº 6).

O anti-LKM não foi detectado na análise atual dos pacientes com HAI (0%; 0/23; Tabela 9; Gráfico 17). Duas pacientes foram positivas para o mesmo ao diagnóstico. Uma paciente (anti-LKM título 1:20; 5 anos de duração de doença), atualmente apresenta AML (título 1:40) e p-ANCA atípico positivos. Embora estes anticorpos sejam compatíveis com diagnóstico de HAI tipo I, não é possível fazer tal afirmação, pela ausência de relatos mostrando mudança de um tipo de HAI para outro. Atualmente, no entanto, há uma tendência a não diferenciar os tipos HAI. Porém este pensamento ainda não é consenso. Outra paciente (anti-LKM título 1:320; 10 anos de doença), se mostra positiva no momento para p-ANCA at., além de AMA (1:80) e FAN citoplasmático pontilhado reticulado (1:80). A paciente foi reavaliada histopatologicamente para SSP de HAI/CBP, porém no material analisado não foi confirmado o diagnóstico. No futuro a mesma deverá ser submetida à nova biópsia para reavaliação (Tabela 12; Nº 4).

Doze pacientes com HAI (52,2%; 12/23) foram positivos para o p-ANCA atípico (Tabela 9; Gráfico 17). Tais dados se mostram de acordo com a literatura,

que caracteriza p-ANCA atípico em até 90% dos pacientes com HAI, e ressalta seu valor diagnóstico para HAI, mesmo na ausência de AML (SCHWARZE, 2003; BOGDANOS, KOMOROWSKI, 2011). Nesse contexto, dentre os 12 pacientes, apenas 3 apresentaram AML concomitante. Cabe enfatizar que nenhum dos 12 pacientes ANCA positivos tem diagnóstico de retocolite ulcerativa, corroborando o papel do ANCA nas HAI. A diferença significativa na positividade do ANCA (52,2%; 12/23) em relação ao AML (17,4%; 4/23; $p=0,014$) nos pacientes com HAI em estudo reforça essa observação, e vem ao encontro dos dados de CZAJA (2010).

Nesse contexto, dentre os 7 pacientes AML positivos ao diagnóstico, e que na determinação atual negativaram, 5 apresentam ANCA positivo.

Em 4 pacientes com HAI a leitura do ANCA não foi possível devido a presença de FAN forte positivo (título 1:320 a 1:640; padrão nuclear pontilhado grosso e /ou tipo membrana nuclear). De acordo com o consenso FAN-HEp-2 esses padrões de fluorescência apresentam importante associação com LES (DELLAVANCE et al., 2009). Dois desses pacientes já tinham diagnóstico prévio de LES e os outros 2 serão avaliados para os critérios de diagnóstico da doença, como será comentado no item 5.4.3.3, decorrente dos marcadores sorológicos detectados no estudo.

Cinco pacientes com HAI (21,7%; 5/23) foram negativas para todos os anticorpos avaliados. Quatro dessas não apresentam qualquer outra co-morbidade e estão com a doença controlada, sendo que duas se encontram sem medicação, uma já há 3 anos. A outra paciente apresenta hipotireoidismo. Pode ser de interesse investigar o anticorpo anti-SLA nesse grupo de pacientes visando avaliar HAI tipo III (CZAJA, 2010).

Até o momento, a revisão histopatológica dos 6 pacientes com HAI decorrente dos dados obtidos com os marcadores sorológicos permitiu sugerir SSP (HAI/CBP) em 4 destes (17,4%; Tabela 12), que estão sendo revistos clinicamente. Os dados salientam o papel dos biomarcadores e seu valor como ferramenta de diagnóstico.

QUADRO 5 – PADRÕES FAN-HEP-2 NAS HEPATOPATIAS AUTOIMUNES

PADRÕES	HAI %(N)	CBP %(N)	CEP %(N)	SSP %(N)
nuclear tipo membrana nuclear				13,3 (2/15)
nuclear tipo membrana nuclear + nuclear pontilhado grosso	8,7 (2/23)			
nuclear homogêneo	4,3 (1/23)		6,7 (1/15)	
nuclear pontilhado fino	4,3 (1/23)	14,3 (1/7)		
nuclear pontilhado fino + citoplasmático pontilhado reticulado				6,7 (1/15)
nuclear pontilhado fino denso + citoplasmático pontilhado reticulado			6,7 (1/15)	
nuclear pontilhado grosso	8,7 (2/23)			6,7 (1/15)
nuclear pontilhado grosso reticulado			6,7 (1/15)	
nuclear pontilhado fino + nucleolar homogêneo				6,7 (1/15)
nucleolar homogêneo				6,7 (1/15)
citoplasmático pontilhado reticulado	26,1 (6/23)	14,3 (1/7)		26,7 (4/15)
citoplasmático pontilhado reticulado + nuclear pontos isolados		28,6 (2/7)		13,3 (2/15)
citoplasmático pontilhado reticulado + nuclear centromérico		14,3 (1/7)		
citoplasmático pontilhado fino denso	4,3 (1/23)			

De acordo com BLOCH et al. (2005), o entendimento do significado clínico dos anticorpos que conferem ao FAN o padrão citoplasmático pontilhado, bem como a relação desses com o antígeno citoplasmático GW182, componente do mRNA, poderia contribuir no diagnóstico e tratamento apropriado de pacientes com CBP. STINTON et al. (2011), ao identificarem de forma pioneira as proteínas na estrutura de GWB que constituem o alvo desses autoanticorpos na CBP, sugerem tratar-se de área de interesse atual e possível relevância clínica.

TABELA 12 – ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NAS DAI HEPÁTICAS: PACIENTES SOB REAVALIAÇÃO CLÍNICO/HISTOPATOLÓGICA

Nº	CÓDIGO PACIENTE	DAÍ HEPÁTICA	MARCADORES SOROLÓGICOS +	AVALIAR	BIÓPSIA (revisão)
01	003	HAI	AMA 1:20 FAN Ct PT Rt 1:640	CBP	NR*
02	011	HAI	AMA 1:20 FAN Ct PT Rt 1:80	CBP	Sugere SSP (HAI/CBP)
03	022	HAI	AMA 1:640 FAN Ct PT Rt 1:1280	CBP	Sugere SSP (HAI/CBP)
04	023	HAI	AMA 1:80 FAN Ct PT Rt 1:80	CBP	NC SSP**
05	026	HAI	AMA 1:80 FAN Ct PT Rt 1:160	CBP	Sugere SSP (HAI/CBP)
06	033	HAI	AMA 1:20 [#] FAN Ct PT Rt 1:640	CBP	Sugere SSP (HAI/CBP)
07	054	CBP	AML 1:160 a-Cromat. 36,6U	HAI	Sugere SSP (HAI/CBP)
08	016	CEP	AMA 1:80	CBP	NR*
09	017	HAI/CEP	AMA 1:160 FAN Ct PT Rt 1:320 a-GP210 28U	CBP	NR*
10	031	HAI/CEP	AMA 1:80	CBP	NR*
11	019	HAI/CEP	AMA 1:80	CBP	NR*
12	047	HAI/CEP	FAN Ct PT Rt 1:320 FAN Nc Pt Fino 1:160	CBP	Sugere SSP (HAI/CBP)

NOTA: Outros marcadores sorológicos: ver apêndices 1 e 2

NR*: Não revisada até o momento

NC SSP**: Não confirma SSP

[#]: Determinações com 6 meses de diferença

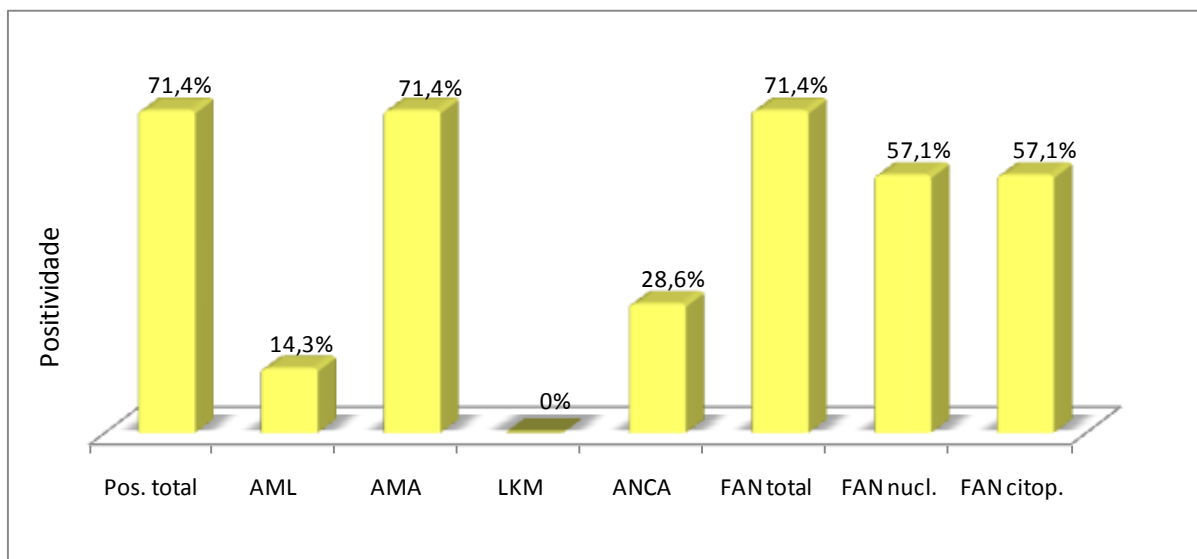
5.2.3.2 Autoanticorpos na CBP: associação clínico-laboratorial

Na CBP foi detectado 71,4% (5/7) de positividade para os anticorpos avaliados, sendo todos os pacientes positivos para mais de um anticorpo simultaneamente (Gráfico 8). Os dados demográficos destes pacientes (N=5) encontram-se na Tabela 10, chamando atenção a idade média (53,2 anos) e a idade

de início da doença (média: 47,8 anos) mais elevadas em relação aos pacientes com as outras DAI hepáticas, embora sem significância estatística. Deve-se considerar, no entanto, o baixo número de pacientes nesse grupo.

A positividade dos anticorpos relacionados ao diagnóstico nesses pacientes, demonstrados na tabela 9, encontra-se ilustrada no Gráfico 18.

GRÁFICO 18 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS NA CBP



NOTA: Pos. total: positividade total; FAN nucl.: FAN nuclear; FAN citop.: FAN citoplasmático

O AMA, principal marcador sorológico da CBP, foi detectado em 71,4% (5/7) dos pacientes, enquanto o FAN (padrão citoplasmático/nuclear) ocorreu em 57,1% (4/7) destes. De acordo com MIYACHI et al. (2008), o AMA pode ser encontrado em até 85-90% dos pacientes com CBP. A menor positividade obtida no presente estudo pode decorrer do pequeno número de pacientes avaliados.

No Quadro 5 tem-se o detalhamento dos padrões de FAN-HEp-2 em cada hepatopatia. Do total de 5 pacientes FAN positivos com CBP (71,4%), 4 apresentaram o padrão citoplasmático pontilhado reticulado (títulos 1:360 a 1:10240), sendo 2 concomitantes com padrão nuclear pontos isolados e 1 com o padrão nuclear centromérico. Esses padrões são compatíveis com CBP (DELLAVANCE et al., 2009; BOGDANOS, KOMOROWSKI, 2011), e a concomitância do AMA nos 4 pacientes (títulos 1:40 a 1:1280) corrobora a significância obtida na correlação de Spearman ($r=0,636$; $p<0,001$; Gráfico 16) e reforça a relevância clínica dessa correlação demonstrada nos pacientes do presente estudo. O padrão de FAN nuclear pontilhado fino detectado em um

paciente AMA positivo (título 1:80 para ambos) também está associado à CBP, embora se relacione com maior frequência à SS.

A análise relativa à detecção do padrão centromérico em um dos pacientes com CBP e a sua relevância no prognóstico e associação com co-morbidades, será feita nos itens 5.3 e 5.4.3.3, respectivamente.

Uma paciente apresentou o AML positivo (14,3%; título 1:160). Apesar desse anticorpo também ocorrer na CBP, entendeu-se como relevante a reavaliação clínica e histopatológica da paciente na hipótese de SSP com HAI (Tabela 12; N° 7). Embora com o ANCA negativo, a detecção do anticorpo anti-cromatina na mesma (36,6 U), isolado de qualquer outro marcador de DAI reumática, corrobora a hipótese de HAI. De acordo com GÓMEZ-PUERTA et al.(2008) e CZAJA (2010b), o mesmo pode ser encontrado em até 40-50% dos pacientes com HAI. A revisão histopatológica permitiu sugerir SSP de HAI/CBP na paciente, que será reavaliada clinicamente.

Por sua vez, 2 outros pacientes com CBP (28,6%; 2/7) foram positivos para o p-ANCA atípico (Tabela 9; Gráfico 18). Esta constitui a única situação no estudo em que esse anticorpo foi detectado na ausência de HAI, CEP e/ou retocolite ulcerativa. Os mesmos serão acompanhados no aspecto clínico e sorológico periodicamente para avaliar a ocorrência de RCU em ambos e/ou SSP com HAI.

O anti-LKM não foi detectado na análise dos pacientes com CBP (0%; 0/7; Tabela 9; Gráfico 18), corroborando com a literatura, já que este não é marcador para a doença (BOGDANOS, KOMOROWSKI, 2011).

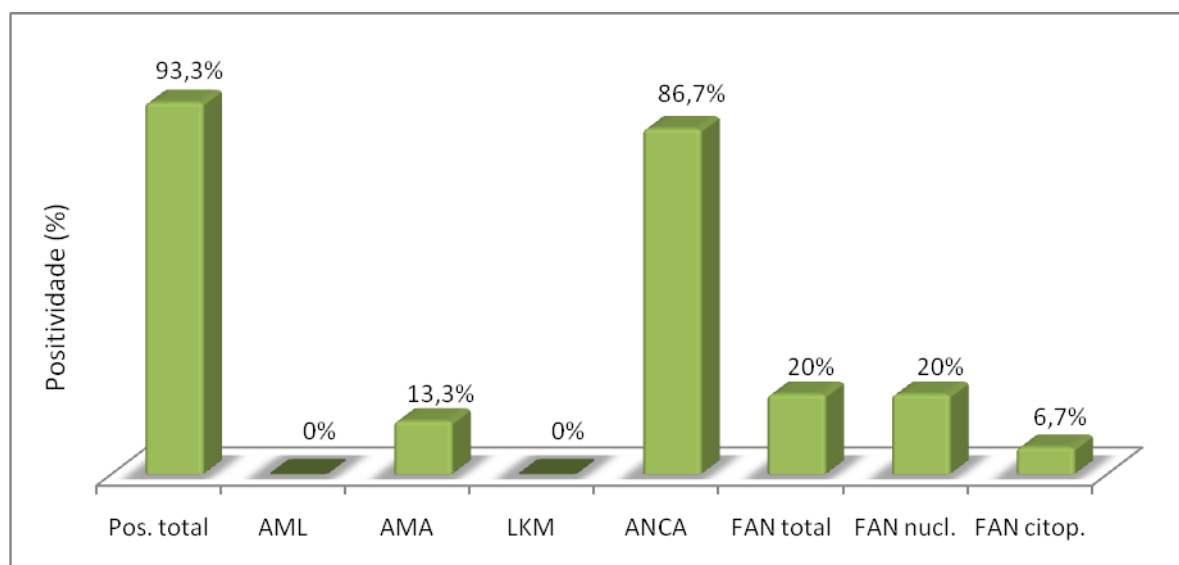
Duas pacientes (28,6%; 2/7) foram negativas para todos os anticorpos avaliados. Uma apresenta doença controlada e deficiência comum variável como co-morbidade, o que pode explicar a ausência de anticorpos. A outra, apesar da ausência de qualquer marcador sorológico, apresenta diagnóstico prévio de LES. A mesma será avaliada futuramente para o anticorpo anti-SLA, visando descartar HAI tipo III. A revisão histopatológica da paciente confirmou CBP, embora sem a presença de granuloma.

5.2.3.3 Autoanticorpos na CEP: associação clínico-laboratorial

Dentre os 15 pacientes com CEP a positividade total de anticorpos foi de 93,3% (14/15), e embora elevada não diferiu significativamente das outras DAI hepáticas (Gráfico 8). Quatro pacientes apresentaram mais de um anticorpo simultaneamente (26,7%). Os dados demográficos dos pacientes (N=14) encontram-se na Tabela 10, destacando-se a positividade de anticorpos discretamente maior nos pacientes do sexo masculino (1♂: 0,75♀), que acompanha a própria proporção de pacientes com CEP no estudo (1♂: 0,87♀). Este aspecto diferencia a CEP das outras hepatopatias autoimunes, nas quais se tem maior predomínio de positividade no sexo feminino, como também demonstram outros autores (KARLSEN, 2010).

No Gráfico 19 tem-se a positividade dos anticorpos relacionados ao diagnóstico em pacientes com CEP demonstrados na tabela 9.

GRÁFICO 19 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS NA CEP



NOTA: Pos. total: positividade total; FAN nucl.: FAN nuclear; FAN citop.: FAN citoplasmático

O marcador sorológico da CEP (p-ANCA atípico) foi detectado em 86,7% (13/15) dos pacientes, e se mostra de acordo com a literatura (SCHWARZE et al., 2003; SAICH et al., 2008). Não se dispõe dos dados do ANCA no momento do diagnóstico dos pacientes para analisar a influência do tratamento na positividade do mesmo. No entanto, a alta prevalência desse anticorpo nos pacientes (86,7%), a maioria com duração de doença >2-10 anos (Tabela 10), sugere sua persistência

mesmo com o paciente sob tratamento. Como o paciente que apresenta CEP não é tratado com imunossuppressores, talvez a ausência de modificação no perfil imune do paciente também colabore para a positividade permanente deste autoanticorpo.

Cabe enfatizar que neste grupo, 6 pacientes apresentaram diagnóstico de RCU (40%; 6/15), compatível com o anticorpo encontrado (p-ANCA atípico). Os achados corroboram estudos mostrando maior frequência de RCU em pacientes com CEP (SAICH et al., 2008). No entanto, a RCU está sob controle em todos estes pacientes com tratamento com sulfa, corticóide e/ou azatioprina.

O FAN apresentou-se positivo em 3 pacientes (20%; 3/15), todos com padrão de fluorescência nuclear. Um paciente apresentou padrão citoplasmático pontilhado reticulado concomitante com o nuclear (6,7%; título 1:320), como caracteriza o Quadro 5.

Dois pacientes apresentaram o AMA positivo (títulos 1:80 e 1:20), porém são distintos do paciente com FAN citoplasmático pontilhado reticulado. Este último terá a sorologia para o AMA e FAN avaliada periodicamente. CHAPMAN e CULLEN (2008) relatam que o AMA pode estar presente em menos de 10% dos pacientes com CEP, com relevância clínica não esclarecida. A paciente com AMA título 1:80 será avaliada clínica e histopatologicamente para CBP, considerando a relevância do AMA como marcador sorológico desta afecção (BOGDANOS, KOMOROWSKI, 2011), aliado à semelhança histopatológica da CBP com CEP dependendo da fase em que se encontram (Tabela 12; N° 8).

Os anticorpos AML e anti-LKM não foram detectados na análise atual dos pacientes (0%; 0/15; Tabela 9; Gráfico 19).

Uma paciente (6,7%; 1/15) foi negativa para todos os anticorpos avaliados. Esta possui a doença de base controlada e será avaliada futuramente para o anticorpo anti-SLA.

5.2.3.4 Autoanticorpos na SSP: associação clínico-laboratorial

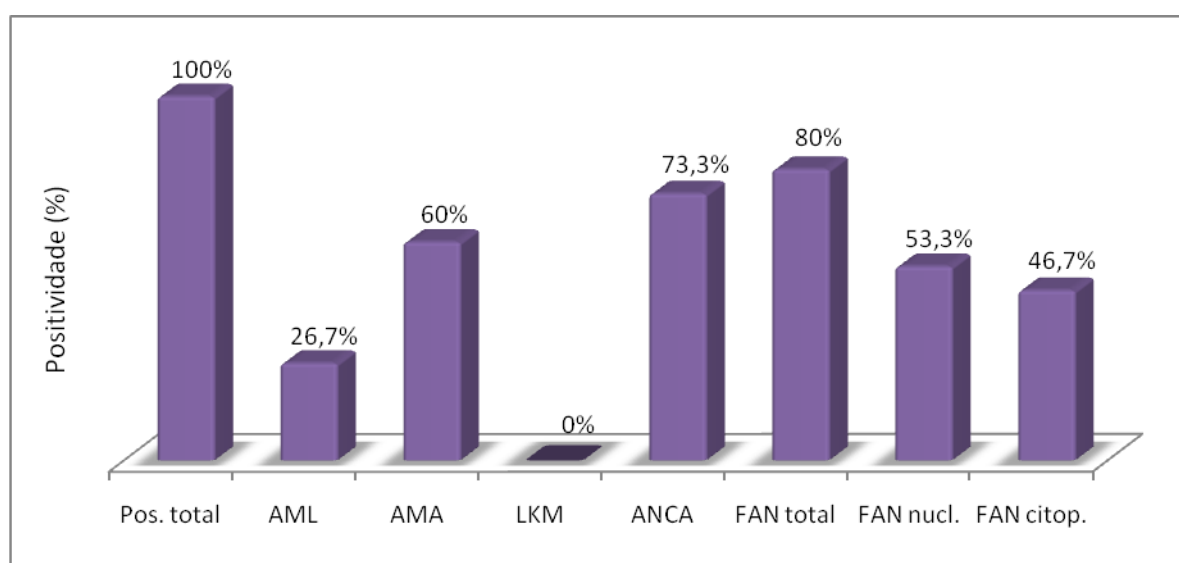
A positividade total dos anticorpos na SSP foi de 100% (N=15; Gráfico 8), caracterizando aumento com tendência à significância em relação aos pacientes com HAI ($p=0,067$) e com CBP ($p=0,091$), que se justifica devido à detecção dos

marcadores sorológicos envolvidos nas 2 sobreposições (HAI/CBP e HAI/CEP). Doze pacientes apresentaram mais de um anticorpo simultaneamente (80%).

Os dados demográficos dos pacientes com SSP positivos para os anticorpos analisados encontram-se na Tabela 10, destacando-se entre esses a proporção de 1,5:1 para o sexo feminino, em contraste às altas porcentagens de anticorpos encontrada nas mulheres com HAI (8:1) e CBP (4:1) isoladamente (KRAWITT, 2011; SELMI, 2009). Em relação à faixa etária e idade de início da doença observou menores médias nos mesmos (38,7 e 34,4 anos, respectivamente), assim como no tempo médio de duração da doença (4,3 anos), porem sem diferença significativa dos pacientes com outras DAI do fígado (RUST, BEUERS, 2008).

O Gráfico 20 ilustra a positividade dos anticorpos relacionados ao diagnóstico em pacientes com SSP demonstrados na tabela 9.

GRÁFICO 20 – POSITIVIDADE DOS ANTICORPOS NA SSP



NOTA: Pos. total: positividade total; FAN nucl.: FAN nuclear; FAN citop.: FAN citoplasmático

Os anticorpos detectados na SSP (AML, FAN padrão nuclear, AMA, FAN padrão citoplasmático e p-ANCA atípico) foram observados em 26,7% (4/15), 53,3% (8/15), 60% (9/15), 46,7% (7/15) e 73,3% (11/15) dos pacientes, respectivamente. A diversidade de anticorpos relacionados à SSP deve-se à associação de 2 DAI do fígado (HAI/CBP e HAI/CEP) ao mesmo tempo.

A presença do AML em apenas 4 dos 15 pacientes com SSP (26,7%; títulos 1:40 a 1:160) mostrou diferença significativa em relação ao ANCA (73,3%; 11/15;

$p=0,013$), e reforça o papel desse último como ferramenta diagnóstica da HAI nas situações em que o AML não é detectado, como enfatizado por CZAJA (2010).

O AMA, marcador sorológico da CBP (BOGDANOS, KOMOROWSKI, 2011), ocorreu em 9 pacientes (60%; títulos 1:40 a 1:320), 6 destes com HAI/CBP e 3 com HAI/CEP. O detalhamento dos padrões de FAN-HEp-2 na SSP (Quadro 5) permitiu observar concomitância entre AMA e FAN padrão citoplasmático pontilhado reticulado (títulos 1:320 a 1:2560) em 5 desses 9 pacientes (HAI/CBP=4; HAI/CEP=1). O paciente com HAI/CEP será re-avaliado clínica e histopatologicamente visando avaliar SSP de HAI/CBP, pois além da concomitância AMA/FAN citoplasmático pontilhado reticulado, o paciente apresenta o anticorpo anti-GP210, marcador precoce e de prognóstico na CBP (discutido no item 5.3). De forma similar, os outros 2 pacientes com HAI/CEP e AMA positivo isoladamente serão avaliados para HAI/CBP (Tabela 12; N° 9 a 11).

Uma paciente com SSP (HAI/CEP), embora negativa para o AMA, por apresentar o FAN citoplasmático pontilhado reticulado (1:320) e FAN nuclear pontilhado fino (1:160), ambos relacionados à CBP, foi reavaliada histopatologicamente (Tabela 12; N° 12), e teve sugerida a SSP de HAI/CBP. A mesma será revista no aspecto clínico.

Os outros pacientes positivos para FAN padrão nuclear serão avaliados para possíveis co-morbidades e comentados no item 5.4.3.3.

O anti-LKM não foi detectado em qualquer paciente com SSP (0%; 0/15; Tabela 9; Gráfico 20).

Dois pacientes (13,3%; 2/15) possuem o diagnóstico de RCU, ambos apresentam HAI/CEP e são ANCA positivos. Os dados são compatíveis com a literatura (SAICH, CHAPMAN, 2008).

Até o momento, a revisão histopatológica dos 12 casos de pacientes decorrente dos dados obtidos com os marcadores sorológicos (Tabela 12) permitiu sugerir SSP em 6 destes. Todos serão reavaliados clinicamente.

5.3 POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS RELACIONADOS AO PROGNÓSTICO NAS DAI HEPÁTICAS

Os autoanticorpos em estudo relacionados com o prognóstico das DAI hepáticas, mais especificamente a CBP, são o anti-GP 210 e o anti-centrômero.

Considerando o total de pacientes (N=60), o anticorpo anti-GP 210 foi detectado em 3,3% (2/60) e o anti-centrômero em 1,7% (1/60). Na análise específica nos 14 pacientes que tem CBP, seja isolada (N=7) ou como SSP (HAI/CBP; N=7), a positividade do anti-GP210 e anti-centrômero foi de 7,14% (anti-GP210: 1/14; anti-centrômero: 1/14)

A Tabela 13 resume os dados demográficos, clínico-laboratoriais e sorológicos dos 3 pacientes, que foram reavaliados clinicamente, visando verificar possível evolução para falência hepática e hipertensão portal.

Os pacientes 2 e 3 já apresentam sinais de hipertensão portal, com a presença de varizes. O paciente 3 apresenta níveis de albumina abaixo do valor mínimo normal e tempo de protrombina nos limites máximos do normal (3 segundos acima do controle), demonstrando quadro inicial de insuficiência hepática. Entretanto, há outros pacientes no grupo total estudado que apresentam hipertensão portal, porém, não demonstraram positividade para o anti-centrômero. Da mesma maneira, outros poucos pacientes apresentam sinais de insuficiência hepática, porém, não positivaram o anti-GP 210. Os dados sugerem que possivelmente a sensibilidade dos testes é baixa, e ainda há necessidade de se determinar sua aplicação na prática diária.

A positividade detectada para estes anticorpos no presente estudo é menor em relação à descrita por GAO et al. (2008) e MIYACHI et al. (2008), entre outros, que relatam 30% para o anti-gp210 e 20 a 30% para o anti-centrômero. Esta diferença pode ser justificada ainda pelo baixo número de pacientes com CBP acompanhados no ambulatório.

TABELA 13 – DADOS DOS PACIENTES POSITIVOS PARA ANTI-GP 210 E ANTI-CENTRÔMERO

DADOS	PACIENTE 1 (anti-gp 210)	PACIENTE 2 (anti-gp 210)	PACIENTE 3 (anti-centrômero)
Concentração	91 U	28 U	Título 1:2560
Hepatopatia	SSP (HAI/CBP)	SSP (HAI/CEP)	CBP
Sexo	Masculino	Feminino	Masculino
Idade (anos)	42	48	49
TDD (anos)	7	6	7
Hipertensão portal	Não	Sim	Sim
Insuficiência hep.	Não	Não	Albumina<normal
Autoanticorpos			
AML	1:40	Neg	Neg
AMA	1:640	1:160	1:80
LKM	Neg	Neg	Neg
FAN	1:640	1:320	1:2560
Padrões	Ct pt RT	Ct pt RT	Ct pt RT
	Nc pt isol		Nc centromérico
ANCA	p-ANCA atípico	Neg	Neg
SSA/Ro	Neg	40,9 U	38,5 U
Outras DAÍ	Ausente	Artrite reumatóide	Vitiligo
			Hipotireoidismo

NOTA: Códigos: Paciente 1: 005; Paciente 2: 017; Paciente 3: 053

TDD: Tempo de duração da doença;

Insuficiência hep.: Insuficiência hepática

Ct pt rt: padrão citoplasmático pontilhado reticulado;

Nc pt Isol: padrão nuclear pontos isolados;

Enquanto os dados referentes aos pacientes 1 e 3 estão de acordo com a literatura quanto a positividade do anti-GP210 e anti-centrômero em pacientes com CBP, o paciente 2, cuja SSP é HAI/CEP, será reavaliado clínica e histopatologicamente para possível SSP de HAI/CBP (Tabela 12; N° 9), pois possui também o AMA (título 1:160) e FAN padrão citoplasmático pontilhado reticulado (título:1:320) que respaldam tal diagnóstico. Aliado a isto, no exame histopatológico a fase florida é comum em ambas as doenças (CBP e CEP) e pode constituir um fator de equívoco no diagnóstico.

Por sua vez, GOW et al. (2001) relata que a associação de AR com CEP é marcador clínico de alto risco para progressão de cirrose, e vem ao encontro com o

diagnóstico prévio de AR do paciente 2, embora este não apresente positividade para anti-CCP e fator reumatóide realizados no estudo.

O paciente 3 também será avaliado quanto a presença de esclerodermia com CREST, já que o anti-centrômero constitui marcador para a doença, sendo encontrado em até 90-95% dos pacientes. De acordo com YABE et al. (1992) pacientes com CBP possuem a segunda maior incidência para o anti-centrômero, seguido da síndrome de CREST. No entanto, KOURAKLIS et al. (2002) relata que até então a associação de CBP e síndrome de CREST é reconhecida em mulheres, não sendo descrita no sexo masculino.

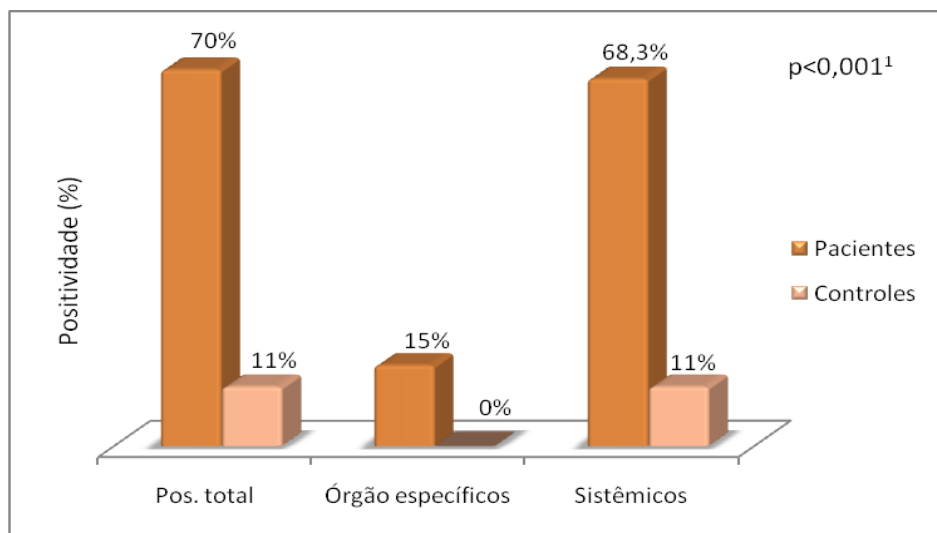
5.4 POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS RELACIONADOS ÀS COMORBIDADES NAS DAI HEPÁTICAS

São diversas as DAI que podem se apresentar concomitantes às hepatopatias autoimunes. Os autoanticorpos em estudo relacionados às possíveis co-morbidades compreendem os órgão específicos e sistêmicos.

Dentre os anticorpos órgão específicos foram avaliados o EmA-IgA, anti-tTG-IgA e o anti-CGP. Em relação aos sistêmicos, considerou-se relevante determinar o FAN, anti-cromatina, anti-ds-DNA e perfil ENA, bem como o anti-CCP e FR.

Nos pacientes em estudo, 70% (42/60) mostraram-se positivos para pelo menos um dos autoanticorpos analisados, sendo 15% (9/60) para os anticorpos órgão específicos e 68,3% (41/60) para os sistêmicos (Gráfico 20). Vinte e seis pacientes (43,3%; 26/60) apresentaram mais de um anticorpo concomitantemente. No grupo controle a positividade total foi de 11% (11/100), caracterizando-se 0% (0/100) de anticorpos órgão específicos e 11% (11/100) de sistêmicos. Pacientes e indivíduos sadios diferiram significativamente quanto à frequência dos anticorpos, como se observa no Gráfico 21 ($p < 0,001$ para todos os grupos).

GRÁFICO 21 – POSITIVIDADE DE AUTOANTICORPOS RELACIONADOS ÀS CO-MORBIDADES



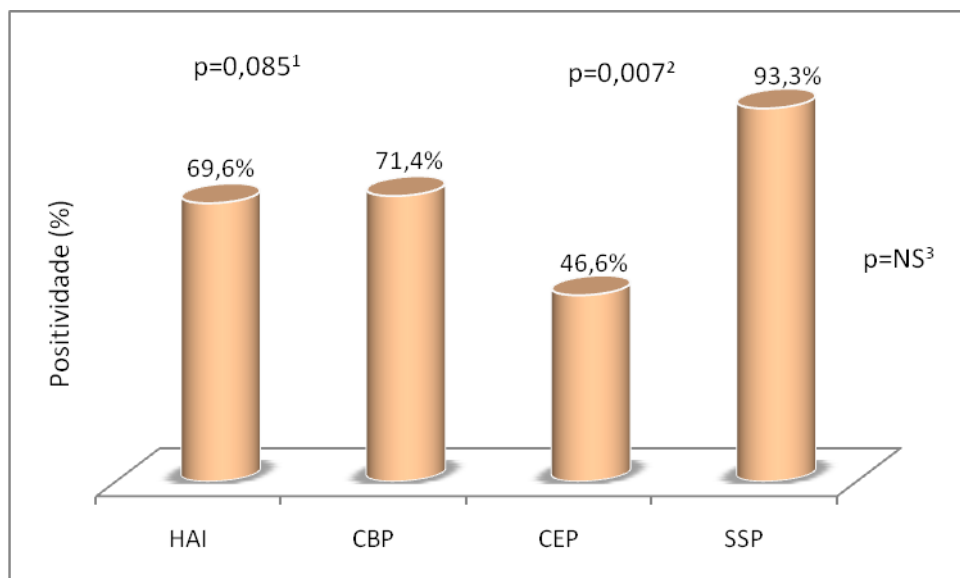
NOTA: ¹Pacientes x controles: positividade total, anticorpos órgão específicos e anticorpos sistêmicos:

$p < 0,001$

Teste de Fisher

A análise dos anticorpos relacionados às co-morbidades em cada DAI hepática separadamente mostrou frequência de 69,6% (16/23) na HAI, 71,4% (5/7) na CBP, 46,6% (7/15) na CEP e 93,3% (14/15) na SSP. Aumento significativo de positividade foi caracterizado na SSP quando comparado à CEP ($p = 0,007$), e tendência à significância na comparação com HAI ($p = 0,085$). Os demais grupos de hepatopatias não diferiram entre si em relação à presença desses autoanticorpos (Gráfico 22).

GRÁFICO 22 – POSITIVIDADE DE AUTOANTICORPOS RELACIONADOS ÀS CO-MORBIDADES NAS DAI HEPÁTICAS



NOTA: ¹SSP x HAI: $p=0,085$

²SSP x CEP: $p=0,007$

³HAI x CBP; HAI x CEP; CBP x CEP; CBP x SSP: $p=NS$

Teste de Fisher

Os anticorpos pesquisados visando à triagem sorológica de co-morbidades foram encontrados em grande proporção nos pacientes com DAI hepática (70%). Esse dado está de acordo com a literatura e reflete na nossa população o alto índice de DAI que se sobrepõe às DAI do fígado nas diversas populações mundiais. O maior índice de positividade para os anticorpos relacionados às DAI sistêmicas (68,3%) é pertinente tanto com o amplo painel de anticorpos pesquisados, assim como com a real ocorrência dessas doenças nas hepatopatias autoimunes do fígado (STEFANIDIS et al., 2008; KARP, AKPEK, ANDERS, 2010; TAKAHASHI et al., 2010). A menor positividade detectada para os anticorpos relacionados às DAI órgão específicas (15%) pode ser explicada pelo fato de se ter realizado a triagem sorológica apenas para doença celíaca e gastrite atrófica. Os anticorpos que caracterizam as co-morbidades de maior frequência nas DAI do fígado, como as doenças da tireóide, não foram incluídos no estudo (SILVEIRA et al., 2009; EFE, PURNAK, OZASLAN, 2010), mas serão realizados posteriormente.

Desta forma, sendo os anticorpos investigados marcadores de diferentes DAI, estes diferiram significativamente da população sadia ($p<0,001$), respaldando seu

papel no diagnóstico das mesmas, como demonstra a literatura (UTIYAMA et al., 2007, VALLEJO et al., 2007; GOELDNER et al., 2010 e 2011a).

Observa-se que a frequência dos anticorpos relacionados às co-morbidades é elevada nos 4 grupos de pacientes, com destaque na SSP que caracterizou aumento em relação à CEP ($p=0,007$) e HAI ($p=0,085$), possivelmente pelo fato de envolver 2 doenças ao mesmo tempo (HAI/CBP e HAI/CEP), aumentando assim a possibilidade do paciente desenvolver outras DAI concomitantemente (TEUFEL et al., 2010).

5.4.1 Positividade total dos autoanticorpos relacionados às co-morbidades em relação ao sexo, idade e duração da doença

No total de pacientes avaliados ($N=60$), a positividade dos anticorpos relacionados às co-morbidades autoimunes no sexo feminino foi de 69,8% (30/43), em relação a 70,6% (12/17) no sexo masculino ($p=NS$). Por sua vez, no grupo controle ($N=100$) 11,1% (8/72) das mulheres e 10,7% (3/28) dos homens apresentaram pelo menos um dos anticorpos em análise ($p=NS$).

A proporção de pacientes positivos em relação ao sexo em cada DAI hepática foi de 15:1 na HAI, 4:1 na CBP, 0,4:1 na CEP e 1,8:1 na SSP (mulheres: homens).

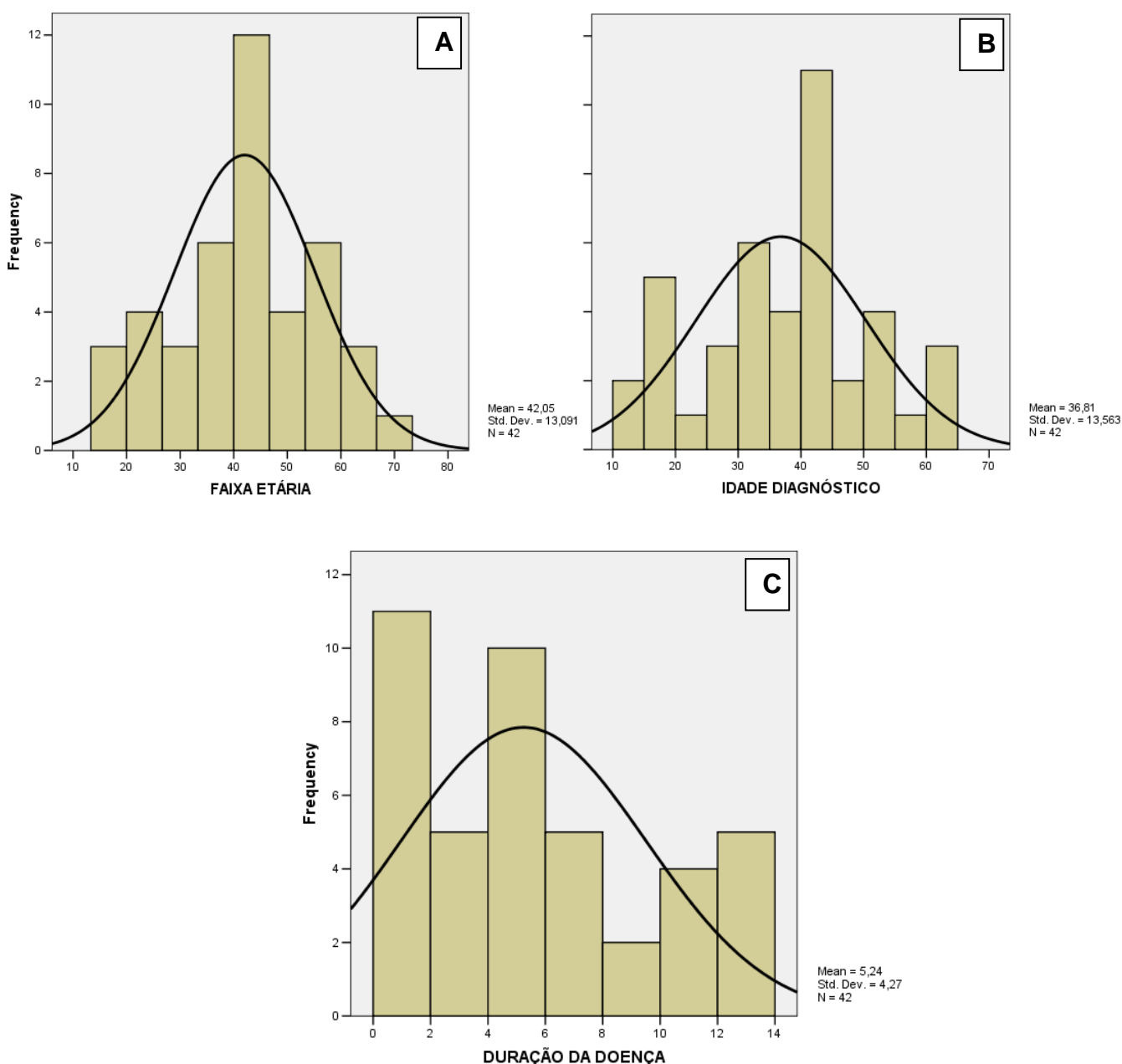
A idade média dentre os pacientes positivos foi de 42 anos \pm 13,1 (mediana: 43 anos), enquanto nos controles foi de 50,4 anos \pm 17,1 (mediana de 55 anos), caracterizando aumento com tendência a significância ($p=0,08$). A frequência de anticorpos em relação à faixa etária dos pacientes no momento da coleta das amostras foi de 69,2% (9/13) nos pacientes entre 19-30 anos, 70,7% (29/41) entre 31-60 e 66,7% (4/6) naqueles acima de 60 anos. Não houve diferença significativa entre as 3 faixas etárias ($p=NS$). Por sua vez, em relação à idade de início da doença, em 68,7% (11/16) dos pacientes com menos de 30 anos detectou-se positividade para pelo menos um dos anticorpos em análise, entre 30 a 50 anos foi caracterizado 73,5% (25/34) e acima de 50 anos 60% (6/10). A comparação entre os grupos mostrou ausência de significância entre os mesmos ($p=NS$).

A análise dos anticorpos relacionados às co-morbidades de acordo com o tempo de duração da doença evidenciou no total dos 60 pacientes 82,3% (14/17) de positividade naqueles entre 0-2 anos de doença, 62,5% (20/32) nos >2-10 anos e

72,7% (8/11) nos pacientes com doença acima de 10 anos de duração, sem diferença estatística entre os grupos ($p=NS$).

Corroborando os dados anteriores, os histogramas A, B e C (Gráfico 23) permitem analisar a distribuição regular dos anticorpos tanto em relação à faixa etária dos pacientes, à idade de início da doença e ao tempo de duração da mesma, respectivamente, no total de pacientes positivos.

GRÁFICO 23 – HISTOGRAMA PARA FAIXA ETÁRIA, IDADE AO DIAGNÓSTICO E TEMPO DE DURAÇÃO DE DOENÇA



NOTA: A) faixa etária; B) idade no momento do diagnóstico; C) duração da doença

Em síntese, no aspecto demográfico, a positividade total dos anticorpos não diferiu entre o sexo feminino e masculino, tanto nos pacientes como controles, ressaltando a importância de avaliar possíveis co-morbidades sem distinção em relação ao gênero, mesmo sendo a maioria das DAI de prevalência elevada nas mulheres (KOURAKLIS et al., 2002; KUMAGI, HEATHCOTE, 2008).

Destaca-se, no entanto, nessa análise global, a acentuada proporção na positividade dos anticorpos nas mulheres com HAI (15:1), em relação aos outros 3 grupos que mantiveram um padrão de positividade semelhante ao observado nos anticorpos relacionados ao diagnóstico. Embora esse achado possa ter relação com o número de pacientes avaliados, é possível observar na literatura a elevada frequência de DAI concomitantes nos pacientes com HAI (KARP, AKPEK, ANDERS, 2010; OO et al., 2010; TAKAHASHI et al., 2010).

Por sua vez, a idade média dos pacientes positivos seguiu a mesma proporção observada para os anticorpos relacionados ao diagnóstico das DAI do fígado, sendo menor nos pacientes (42 anos) do que controles (50,4 anos; $p=0,08$), possivelmente decorrente da própria senescência do sistema imune (MANAVALAN et al., 1998). Em relação à idade de início da doença não houve diferença significativa entre os grupos de pacientes, sendo importante a pesquisa das co-morbidades desde o diagnóstico das DAI hepáticas. Tanto a faixa etária dos pacientes positivos quanto a idade de diagnóstico seguem distribuição simétrica, como se observa nos histogramas (Gráfico 23-A e B). Para a duração da doença a frequência dos anticorpos é elevada desde doenças recentes, com pouco tempo de diagnóstico, até as mais antigas, corroborando a necessidade de investigação de co-morbidades de forma precoce nas DAI do fígado (Gráfico 23-C).

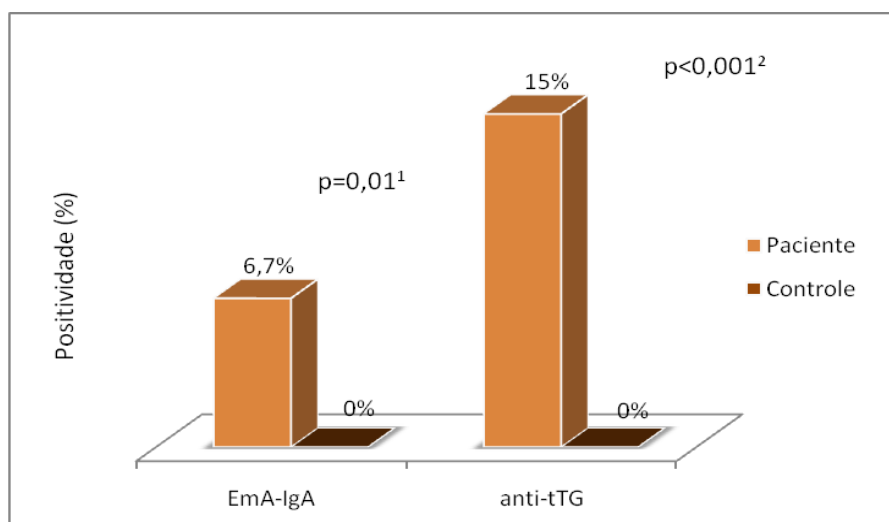
5.4.2 Positividade dos autoanticorpos órgão específicos

Os anticorpos EmA-IgA, anti-tTG e anti-CGP foram avaliados no estudo, visando a triagem sorológica de possíveis co-morbidades com doenças autoimunes órgão específicas, como DC e gastrite atrófica.

5.4.2.1 Positividade do EmA-IgA e anti-tTG em pacientes com DAI hepática

A positividade total dos anticorpos EmA-IgA e anti-tTG foi de 15% (9/60). O EmA-IgA foi detectado em 6,7% (4/60) dos pacientes e o anti-tTG em 15% (9/60). Cinco pacientes são do sexo feminino e 4 masculino (idade média: 50,2 anos). Todos pacientes EmA-IgA positivos apresentavam anti-tTG concomitante. No grupo controle a positividade do EmA-IgA e do anti-tTG foi 0% (0/100), havendo diferença significativa destes em relação aos pacientes ($p=0,01$ e $p<0,001$ respectivamente; Gráfico 24).

GRÁFICO 24 – POSITIVIDADE DO EMA-IGA E ANTI-TTG EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA



NOTA: ¹EmA-IgA⁺: Pacientes x controles: $p=0,01$

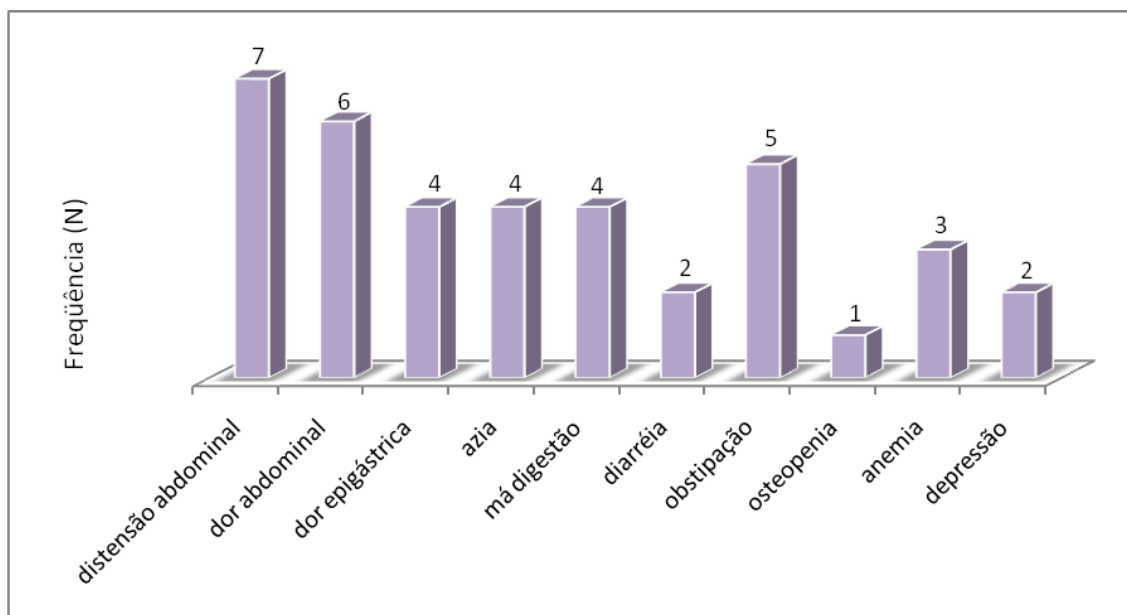
²anti-tTG⁺: Pacientes x controles: $p<0,001$
 Teste de Fisher

Seis pacientes com anti-tTG tiveram reação fraco positiva (20 a 30 U) e três reação moderada a forte (>30 U). Todos pacientes EmA-IgA positivos apresentaram título 1:2,5 na reação. Dentre os 9 pacientes positivos, 7 relataram sintomas relacionados à DC (Gráfico 25). Os pacientes EmA-IgA/anti-tTG concomitantes foram encaminhados para endoscopia digestiva alta e biópsia e aguardam os resultados.

As DAI hepáticas presentes nos pacientes EmA-IgA/anti-tTG positivos são: HAI=3, CBP=1, CEP=3 e SSP=2 (Tabela 14). Uma paciente com EmA-IgA e anti-tTG concomitantes, além da HAI, foi diagnosticada para LES e AR no decorrer do

acompanhamento, enquanto outra, também com HAI, será avaliada para LES e AR, decorrente dos marcadores detectados na pesquisa (item 5.4.3.3; Tabela 15).

GRÁFICO 25 – SINTOMAS RELACIONADOS À DOENÇA CELÍACA NOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICA



A diferença significativa do EmA e anti-tTG entre pacientes e controles, destacando-se a ausência desses anticorpos nos indivíduos sadios em análise (0%) reforça a especificidade dos mesmos e seu valor diagnóstico para DC em pacientes e populações de risco de desenvolver a doença (UTIYAMA et al., 2001; BAPTISTA et al., 2005; NISHIHARA et al., 2005; GOELDNER et al., 2011a; NASS et al., 2011).

Estudos recentes têm demonstrado o constante interesse na avaliação da associação entre DC e DAI do fígado nas diferentes populações (RUBIO-TAPIA et al., 2008; MIRZAAGHA et al., 2010; COLECCHIA et al., 2011), no entanto, os dados obtidos para o EmA-IgA e anti-tTG requerem criteriosa interpretação.

A transglutaminase tecidual é uma enzima multifuncional presente em diferentes órgãos humanos. Em situações de injúria tecidual essa pode ser liberada e se elevar no sangue periférico, desencadeando reações falso-positivas no anti-tTG (CLEMENTE et al., 2002). De acordo com BIZARRO et al. (2003), as taxas mais elevadas de falso-positivo se verificam na CBP (10,4%) em comparação às doenças do colágeno e às doenças inflamatórias intestinais.

A alta positividade do anti-tTG nos pacientes em estudo (15%) contrasta com os índices de DC observados nos relatos de diferentes autores (KAUKINEN et al.,

2002; VILLALTA et al., 2005), em relação ao EmA-IgA (6,7%). Dessa forma, apenas os 4 pacientes positivos concomitantes para os 2 anticorpos foram encaminhados para endoscopia e biópsia, visando confirmar o diagnóstico de DC. Os demais serão reavaliados clinicamente, e somente aqueles com sintomas sugestivos de DC serão submetidos à biópsia. Em um estudo avaliando esses anticorpos em pacientes com DC, KOTZE et al. (2003) demonstraram significativa correlação entre ambos, principalmente em altos títulos. Nos baixos títulos de anticorpos o EmA-IgA se mostrou superior em relação ao anti-tTG, fato que respalda o critério adotado no presente estudo, aliado às observações de CLEMENTE et al (2002) e BIZARRO et al. (2003). Corroborando, um paciente com diagnóstico de DC, prévio ao atendimento no Hospital de Clínicas, apresentou sorologia negativa na avaliação pelo estudo. Após os resultados negativos, mesmo estando em ingesta de glúten sob orientação para ser re-examinado, foi submetido à endoscopia e biópsia de duodeno, no entanto, o exame se mostrou normal.

Considerando que a pesquisa de anti-tTG por ELISA representa o ensaio de maior acesso aos laboratórios, cabe ao clínico estar atento aos aspectos recém colocados, visando evitar expor o paciente a um procedimento invasivo como a endoscopia e/ou à dieta isenta de glúten desnecessariamente.

5.3.1.2 Positividade do anticorpo anti-CGP em pacientes com DAI hepática

Todos os pacientes avaliados no estudo (N=60) e grupo controle (N=100) foram negativos para o anticorpo anti-CGP.

No entanto, um paciente com SSP (HAI/CBP) teve confirmado o diagnóstico de gastrite atrófica no decorrer do estudo através de biópsia gástrica realizada por outra indicação. De acordo com a literatura (WHITTINGHAM, MACKAY, 2005; LAHNER et al., 2010) o anticorpo anti-CGP está presente em 90% dos pacientes com gastrite atrófica. A ausência do anti-CGP no paciente permite supor que a gastrite atrófica que este apresenta é de origem não autoimune, ou o paciente integra o pequeno percentual daqueles que têm a doença mas são soronegativos. Importante notar que na avaliação sistemática do grupo estudado a endoscopia digestiva com biópsia gástrica não fazia parte do protocolo. Portanto, não podemos

excluir a possibilidade de mais pacientes apresentarem este diagnóstico histopatológico.

5.4.3 Positividade dos autoanticorpos sistêmicos

Os anticorpos anti-nucleares (FAN), anti-cromatina, anti-ds-DNA, perfil ENA, anti-CCP e FR foram investigados nos pacientes em estudo, considerando as associações descritas entre DAI do fígado e doenças do colágeno.

O FAN, embora diretamente associado ao diagnóstico da HAI e da CBP, como já demonstrado, foi analisado, também, no contexto das possíveis comorbidades pelo papel que os anticorpos anti-nucleares apresentam na triagem das doenças reumáticas sistêmicas.

A positividade total dos anticorpos relacionados às DAI sistêmicas foi de 68,3% (41/60), e diferiu significativamente do grupo controle (11%; $p < 0,001$; Gráfico 21).

5.4.3.1 Positividade do FAN, anti-cromatina, anti-dsDNA e perfil ENA em pacientes com DAI hepática

O FAN foi detectado em 55% (33/60) dos pacientes e em 5% (5/100) dos indivíduos do grupo controle ($p < 0,001$), conforme demonstrado no Gráfico 13. Dentre os pacientes, 26 são do sexo feminino (78,8%) e 7 masculino (21,2%), idade média: 43,6 anos. O padrão de fluorescência nuclear foi observado em 39,4% (13/33) dos pacientes, o padrão citoplasmático em 36,4% (12/33), enquanto 24,2% (8/33) tinham padrão nuclear e citoplasmático concomitantes. O padrão nucleolar encontra-se descrito juntamente com o nuclear. A distribuição detalhada desses padrões nas DAI do fígado está demonstrada no Quadro 5, e será retomada no contexto da associação clínico-laboratorial com co-morbidades autoimunes sistêmicas.

O anticorpo anti-cromatina foi caracterizado em 18,3% (11/60) dos pacientes (8♀; 3♂; idade média: 41,1 anos; Gráfico 26). Desses, 72,7% (8/11) se apresentaram positivos concomitantemente para o FAN (padrão nuclear=5; padrão

nuclear e citoplasmático=3), assim como 27,3% (3/11) foram positivos concomitantes para o anti-dsDNA. Não foi caracterizada positividade para o anti-cromatina (0%) nos controles testados.

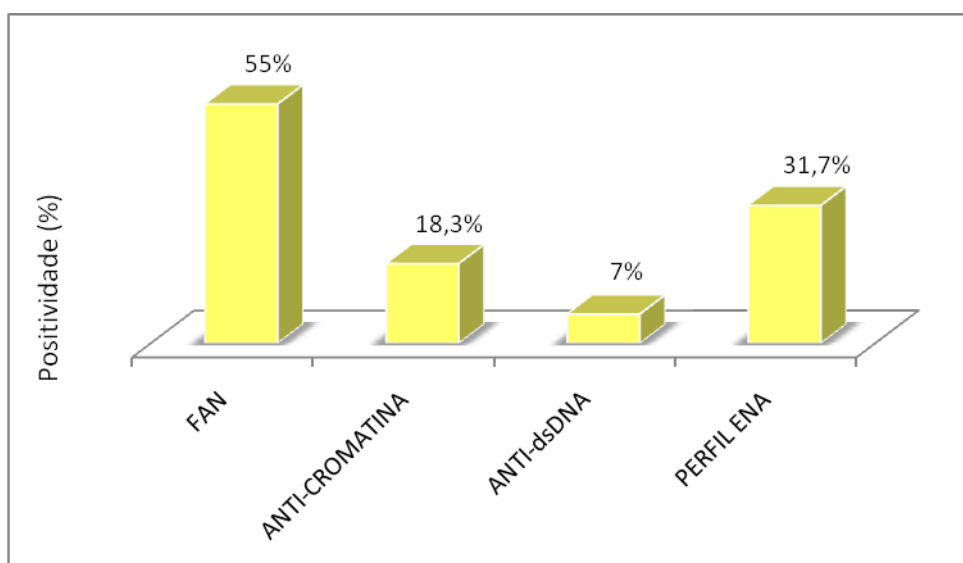
Em relação à intensidade de reação (ELISA) no anti-cromatina, obteve-se reação forte positiva (>60 U) em 54,5% (6/11) dos pacientes e moderada (20-60 U) em 45,5% (5/11) deles. Os 3 pacientes positivos para o anti-cromatina e negativos para o FAN tinham reação moderada (<30 U).

As DAI hepáticas presentes nos pacientes positivos para o anti-cromatina são: HAI=5, CBP=1, CEP=3 e SSP=2 (Tabela 14).

O anticorpo anti-dsDNA, analisado nos pacientes e controles com FAN nuclear positivo, caracterizou 19% (4/21) e 0% (0/4) de positividade, respectivamente. A frequência do anti-DNA foi 6,7% (4/60; 4♀, 0♂; idade média: 45,2 anos; Gráfico 26) considerando o total dos pacientes em estudo. Dentre os 4 pacientes anti-DNA e FAN positivos (padrões nuclear homogêneo, tipo membrana nuclear e/ou pontilhado grosso), três ainda eram concomitantes com anti-cromatina. Os títulos do anti-DNA variaram entre 1:20 a 1:80. Todos pacientes anti-DNA positivos apresentavam HAI (Tabela 14).

O Gráfico 26 caracteriza a positividade dos anticorpos citados e do perfil ENA nos pacientes em estudo.

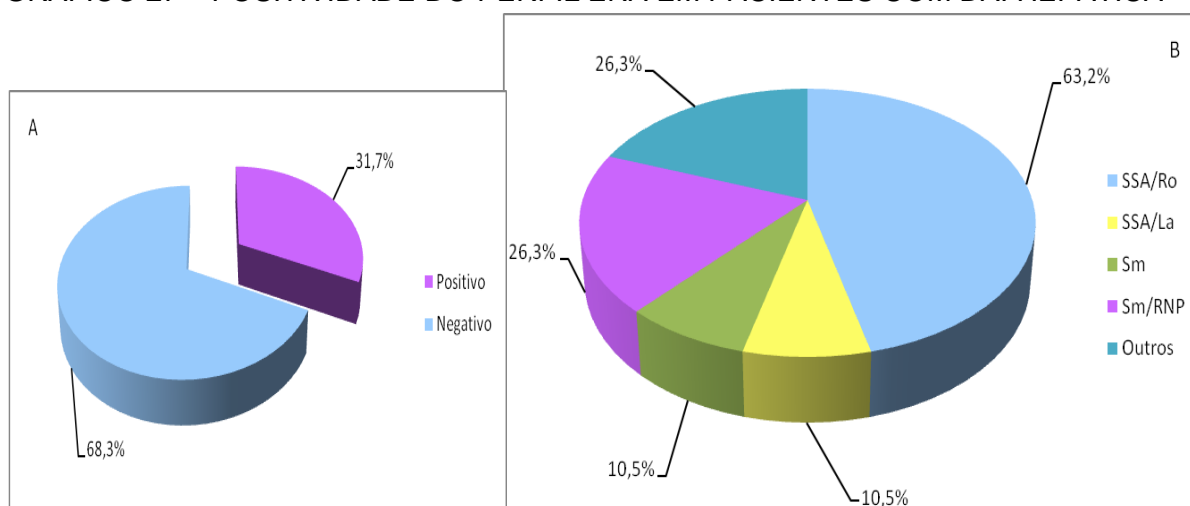
GRÁFICO 26 – POSITIVIDADE DO FAN, ANTI-CROMATINA, ANTI-DSDNA E PERFIL ENA EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA



Dezenove pacientes (31,7%; 19/60) foram positivos para o perfil ENA (Gráfico 26). Destes, 78,9% (15/19) são do sexo feminino e 21,1% (4/19) do sexo masculino (idade média: 40 anos). No grupo controle não foi detectada positividade (0%) nas amostras testadas. As DAI hepáticas presentes nos pacientes positivos para o perfil ENA são: HAI=7, CBP=2, CEP=3 e SSP=7 (Tabela 14) .

A identificação das especificidades do perfil ENA mostrou que dentre os 19 pacientes positivos (31,7%; Gráfico 27-A), 63,2% (12/19) apresentavam o anticorpo anti SSA/Ro, 10,5% (2/19) SSB/La, 10,5% (2/19) Sm e 26,3% (5/19) Sm/RNP (Gráfico 27-B). Pacientes que apresentaram reação positiva somente no ensaio para Sm/RNP, sem ter reagido para o Sm isolado, foram considerados apenas RNP positivos. Em 26,3% (5/19) dos pacientes não foi possível identificar o anticorpo pelo ensaio confirmatório utilizado na pesquisa, que sugere a presença de outro anticorpo (anti-Jo ou anti-Scl-70), considerando que foi utilizado o kit de triagem ENA-6. Cinco pacientes apresentaram mais de um anticorpo simultaneamente. Os anticorpos identificados no ensaio confirmatório do perfil ENA estão distribuídos em cada DAI hepática conforme demonstrado na Tabela 14.

GRÁFICO 27 – POSITIVIDADE DO PERFIL ENA EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA



NOTA: A) Positividade total; B) Especificidades do perfil ENA

A Tabela 14 sintetiza o número de pacientes positivos para os anticorpos relacionados às co-morbidades em estudo para cada grupo de DAI hepática.

TABELA 14 – AUTOANTICORPOS RELACIONADOS ÀS CO-MORBIDADES NAS DAI DO FÍGADO

Anticorpos/ Pacientes	HAI (N=23)	CBP (N=7)	CEP (N=15)	SSP (N=15)	TOTAL (N=60)
EmA-IgA	2	0	2	0	4
a-tTG	3	1	3	2	9
a-CGP	0	0	0	0	0
FAN nuclear	6	4	3	8	21
a-DNA	4	0	0	0	4
a-cromatina	5	1	3	2	11
Perfil ENA	7	2	3	7	19
SSA/Ro	6	2	0	4	12
SSB/La	1	0	0	1	2
Sm	1	0	0	1	2
Sm/RNP	2	0	1	2	5
Outro Ac	1	0	2	2	5
a-CCP	4	0	0	1	5
FR	5	0	0	1	6

A importância do FAN HEp-2 já está estabelecida quanto ao diagnóstico das DAI sistêmicas e estudos recentes tem enfatizado seu valor nas DAI do fígado (BLOCH et al., 2005; YOU et al., 2008)

A relevância clínica do anticorpo anti-cromatina encontra-se bem caracterizada no contexto das DAI (GÓMEZPUERTA, et al, 2008; CZAJA, 2010b). A análise conjunta dos dados do mesmo, com o FAN, seja na presença, ou ausência do a-DNA, direciona o diagnóstico do paciente para LES, aliado aos dados clínicos do paciente e demais critérios de diagnóstico da doença estabelecidos pela Associação Americana de Reumatologia (TAN et al., 1982).

Os achados obtidos com o anticorpo a-DNA se mostram, como um todo, diretamente relacionados ao diagnóstico de LES. A detecção do mesmo no presente estudo concomitante ao anti-cromatina e ao FAN, com padrões nuclear homogêneo, tipo membrana nuclear e pontilhado grosso reforça a possibilidade do diagnóstico (DELLAVANCE et al., 2003, 2009; FIKE, 1997a; JANEWAY et al., 2007). O a-DNA também tem sido pesquisado nas DAI do fígado como pode ser encontrado na literatura (SUBASIĆ et al., 2008).

No contexto do perfil ENA, a presença do anticorpo Sm, marcador para LES, constitui uma informação adicional de relevante valor no diagnóstico diferencial desses pacientes, frente a outras DAI reumáticas sistêmicas (EGNER, 2000; LI et al., 2010). Esse pode se mostrar concomitante com o RNP no LES, que por sua vez, isoladamente, como observado em 1 paciente do presente estudo, pode direcionar para o diagnóstico de DMTC.

A associação dos anticorpos SS-A/Ro e/ou SS-B/La com SS encontra-se amplamente descrita na literatura (COROMINAS et al., 2008; BARBIERE, CHIEREGHIN, 2009), e de maneira geral esta se apresenta secundária à outras DAI reumáticas, sendo mais rara a forma primária de SS.

Dentre as DAI sistêmicas, a SS é uma das que apresentam associação de maior frequência com as DAI do fígado (MATSUMOTO et al., 2005; KARP, AKPEK, ANDERS, 2010).

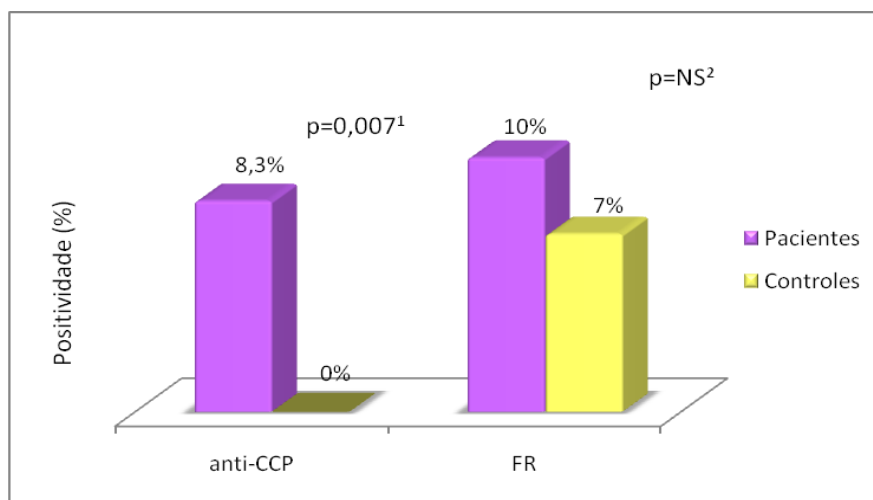
5.4.3.2 Positividade do anticorpo anti-CCP e do FR em pacientes com DAI hepática

O anti-CCP e FR foram positivos em um total de 15% dos pacientes (9/60), todos do sexo feminino (100%; média de idade: 40,9 anos). O anticorpo anti-CCP teve positividade em 8,3% (5/60) destes pacientes e 0% (0/100) do grupo controle ($p=0,007$), enquanto o FR foi detectado em 10% (6/60) e 7% (7/100) respectivamente ($p=NS$; Gráfico 28). Dois pacientes foram positivos para o anti-CCP e FR concomitantemente, ambos com os títulos mais elevados para esses anticorpos (Tabela 15).

Ao avaliar a intensidade de reação para o anti-CCP, 3 pacientes se mostraram fraco positivos, 1 moderado e 1 fortemente positivo. Para o FR, os títulos de reação variaram entre 1:2 a 1:32.

A presença de DAI hepática em pacientes positivos para anti-CCP foi encontrada em 4 pacientes com HAI e 1 paciente com SSP; naqueles positivos para FR encontrou-se 5 com HAI e 1 com SSP (Tabela 14).

GRÁFICO 28 – POSITIVIDADE DO ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM DAI HEPÁTICA



NOTA: ¹Anti-CCP: pacientes x controles: p=0,007

²FR: pacientes x controles: p=NS

Teste de Fisher

Dentre as 9 pacientes com anti-CCP e/ou FR, duas tem diagnóstico prévio de AR. As outras 7 pacientes apresentam queixas/sintomas relacionados a AR, tais como dor articular (7), rigidez matinal (4), edema nas mãos (4) e artrite (2). Estas pacientes serão avaliadas de acordo com os novos critérios de diagnóstico da AR.

A associação das DAI hepáticas com artrite reumatóide tem sido demonstrada por alguns autores ao longo dos anos (GOW et al., 2001; SIEGEL et al., 2003; CAMELLA et al., 2007). Sua investigação no presente estudo é interessante para valorizar as queixas referidas pela maioria dos pacientes sorologicamente positivos e buscar diagnóstico precoce nos mesmos. Os 2 pacientes positivos concomitantes para o FR e anti-CCP, ambos em títulos elevados, têm risco de 100% de vir a desenvolver a AR, já que a positividade de 2 testes aumenta a acurácia do diagnóstico, além de evidenciar o risco de pior prognóstico (LEE, BECK, HALL, 2008). Estes pacientes serão avaliados em conjunto com o grupo da reumatologia para investigação e devido acompanhamento, considerando a importância do diagnóstico e tratamento precoces da AR para evitar os efeitos mais lesivos da doença.

A positividade do anti-CCP e FR em 100% dos pacientes do sexo feminino vem ao encontro dos relatos de GOELDNER et al. (2011b) que caracterizou elevada proporção da AR nas mulheres da população do sul do Brasil (6,8♀:1♂), e respalda o valor dos achados. Relatos de SILVEIRA et al. (2010) também caracterizaram

aumento no sexo feminino com DAI do fígado, corroborando com os dados de GOELDNER et al. (2011b).

A diferença significativa do anti-CCP em relação ao grupo controle ($p=0,007$) reforça o conceito estabelecido que o anti-CCP constitui marcador precoce e de alta especificidade (95%) para a AR. O FR, com especificidade próxima de 70%, pode ser encontrado entre 1 a 4% da população sadia, atingindo até 20% em indivíduos com mais de 65 anos (HELLMANN, STONE, 2004). Tais dados explicam a positividade de 7% no grupo controle do estudo.

Destaca-se ainda em nossos dados a presença de anti-CCP e FR apenas em pacientes que apresentam HAI, seja na forma isolada da doença ou como SSP (HAI/CBP). Os dados são similares a outros da literatura mundial. De acordo com KOGA et al. (2008), a positividade para o anti-CCP encontrada na HAI foi de 10,5% e na CBP foi 2,7%, confirmando associação com AR em 100% e 86,4 respectivamente. Por sua vez, VANNINI et al. (2007) demonstrou positividade do anti-CCP em 40 a 50% dos pacientes com HAI, corroborando a peculiaridade dos achados nos 9 pacientes com HAI ou SSP e positividade para um dos marcadores de AR.

5.4.3.3 Associação clínico-laboratorial

A análise conjunta dos marcadores sorológicos recém citados (FAN, anti-cromatina, anti-DNA, perfil ENA, anti-CCP e FR) permitiu elaborar a Tabela 15, na qual se pode observar a ocorrência dos anticorpos relacionados ao diagnóstico de DAI sistêmicas nos diversos pacientes. Os apêndices 1 e 2 contem dados completos dos mesmos.

As análises laboratoriais ocorreram de maneira duplo cego, desconhecendo-se as situações nas quais os pacientes já apresentavam diagnóstico prévio de alguma das co-morbidades em investigação. Através dos marcadores detectados a associação clínico-laboratorial dos dados permitiu sugerir o diagnóstico de DAI sistêmica em 18 pacientes, sendo LES=5, SS=13, DMTC=1, esclerodermia com CREST=1, esclerose sistêmica=1 e AR=4 pacientes. Em 7 pacientes os marcadores permitiram sugerir 2 DAI sistêmicas concomitantes. Foi possível ainda através da análise dos anticorpos, confirmar o diagnóstico prévio em um total de 5 pacientes:

LES em 3, AR em 1 e LES/AR concomitantes em 1 paciente. Em 3 pacientes, sendo 2 com diagnóstico prévio de LES e 1 de AR, não foram detectados os marcadores sorológicos relacionados às respectivas doenças. Esses pacientes serão reencaminhados ao ambulatório de reumatologia para revisão dos casos (Tabela 15).

Dentre os pacientes relacionados na Tabela 15, duas mulheres com HAI apresentaram ainda anticorpos sugestivos de DC (EmA-IgA e anti-tTG concomitantes) e aguardam resultado da endoscopia digestiva alta e biópsia. Curiosamente, uma apresentou marcadores sugestivos de LES e AR (Cód. 60), e a outra, já com diagnóstico prévio de LES e AR, apresentou ainda anti-SSA/Ro concomitante, sugestivo de SS (Cód. 33).

Cinco pacientes com reação moderadamente positiva para o anti-cromatina não foram incluídos na Tabela 15. Três apresentam apenas esse anticorpo e 2 são positivos concomitantes para o FAN, porém em nenhum desses foi possível qualquer associação clínico-laboratorial. Todos serão reavaliados periodicamente. Dentre os 5 pacientes, apenas um tem HAI, que possibilitaria explicar a presença isolada do anti-cromatina (GÓMEZPUERTA, et al, 2008).

De forma similar, 2 pacientes positivos para o FR em baixos títulos (1:2) e sem outras associações clínico-laboratoriais cabíveis, não foram incluídos na Tabela 15, porém serão acompanhados clínica e sorologicamente.

TABELA 15 – ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DOS MARCADORES SOROLÓGICOS PARA DAI SISTÊMICAS

Nº	DAI HEP	FAN (título/padrão)	a-Cro (U)	a-DNA (título)	Perfil ENA (U)	CCP (U)	FR (tít)	Assoc Clín Laborato
01	HAI	N	N	N	SSA/Ro:61,7	N	1:4	SS*/AR**
03	HAI	1:640 Ct Pt Rt	N	N	SSA/Ro:68,73	N	N	SS*
24	HAI	1:640 Hom	162	1:80	N	37	N	LES*/AR*
26	HAI	1:160 Ct Pt Rt	N	N	SSA/Ro:71,4	79	1:32	SS*/AR*
28	HAI	1:320 Pt Gr	73,8	N	SSA/Ro:71,4 SSA/La:55,5	N	N	SS*/LES**
33	HAI	1:640 Mb Nc 1:640 Pt Gr	127,7	1:80	SSA/Ro:31,2 Sm:82,4 Sm/RNP:67,8	37	N	SS* LES**/AR** DC ⁺⁺
49	HAI	1:640 Pt Gr	N	1:20	RNP:67,8 SSA/Ro:71,4	N	N	LES*/SS*
60	HAI	1:640 Mb Nc 1:640 Pt Gr	169	1:40	N	49,1	1:16	LES*/AR* DC ⁺⁺
52	CBP	1:10240 Ct Pt Rt 1:10240 Pt Isol	N	N	SSA/Ro:44,4	N	N	SS*
53	CBP	1:2560 Nc Ctm 1:2560 Ct Pt Rt	N	N	SSA/Ro:38,58	N	N	SS*/CREST*
06	CEP	1:640 Hom	N	N	RNP:25,31	N	N	LES*
17	HAI/CEP	1:320 Ct Pt Rt	N	N	SSA/Ro:40,9	N	N	SS*/AR***
25	HAI/CEP	1:640 Mb Nc	115	N	SSA/Ro:71,4	N	N	LES*/SS*
47	HAI/CEP	1:640 Pt Fn 1:320 Ct Pt Rt	65,6	N	SSA/La:53,8 Sm:93,3 Sm/RNP:67,8	N	N	SS* LES**
10	HAI/CEP	1:1280 Ct Pt Rt 1:80 Nc Pt Isol	N	N	N	33	N	AR*
14	HAI/CEP	1:320 Ct Pt Rt	N	N	SSA/Ro:71,4	N	N	SS*/LES***
41	HAI/CEP	1:2560 Ct Pt Rt	N	N	SSA/Ro:28,10 RNP:67,8	N	N	SS*/LES*** DMTC*
59	HAI/CEP	1:320 Pt Fn 1:320 Nucl H	N	N	N	N	1:4	Scl.S*/LES**

NOTA: * Diagnóstico sugerido; ** Diagnóstico confirmado; *** Ausência de marcadores;

⁺⁺ Com marcadores para outra DAI

CCP: anticorpo anti-CCP

FAN: Hom: padrão nuclear homogêneo; Mb Nc: tipo membrana nuclear; Pt Gr: pontilhado grosso; Pt Fn: pontilhado fino; Pt Isol: pontos isolados; Nc Ctm: centromérico; Nucl H: nucleolar homogêneo; Ct Pt Rt: citoplasmático pontilhado reticulado; Scl.S: esclerose sistêmica.

Os dados demonstrados na tabela 15 se devem, de forma marcante, à análise e interpretação conjunta do painel completo de marcadores realizados no presente estudo, aliados ao embasamento científico recém colocado nos itens anteriores. É sabido que as DAI reumáticas de caráter sistêmico seguem rígidos critérios já estabelecidos de diagnóstico (TAN et al., 1982; ALETAHA et al., 2010), nos quais os marcadores sorológicos têm relevante valor. Todos os pacientes em que foram sugeridas as doenças relacionadas na Tabela 15 serão encaminhados aos ambulatórios específicos para avaliação clínica e confirmação do diagnóstico.

Cabe lembrar, no entanto, que a supressão também trata LES, AR e outras doenças do colágeno. Desta forma, o tratamento da DAI do fígado pode mascarar os quadros clínicos reumatológicos. Este aspecto, aliado à confirmação sorológica do diagnóstico já estabelecido anteriormente ao estudo em 5 pacientes (Tabela 15), vem ao encontro da relevância dos achados nos pacientes.

Em relação aos pacientes com diagnóstico prévio de LES (n=2) e AR (n=1) nos quais não foram detectados os respectivos marcadores sorológicos na presente pesquisa, deve-se considerar tanto o aspecto do tratamento, eventualmente influenciando na positividade desses, bem como lembrar que uma pequena proporção dos pacientes com LES e AR se mostra soronegativa para os marcadores usuais, embora esse fato venha diminuindo marcadamente nos últimos anos pela sensibilidade e especificidade dos ensaios empregados (IPPOLITO et al., 2011; SOMERS et al., 2011).

Dentre os pacientes relacionados na Tabela 15, os dados obtidos no momento da entrevista permitiram evidenciar sintomas relacionados às doenças sugeridas pela análise dos marcadores. Queixas articulares são freqüentes na maioria desses pacientes, no entanto, sintomas mais relacionados à SS, CREST e esclerose sistêmica chamam a atenção nos mesmos. Dentre os 13 pacientes positivos para o anticorpo anti-SSA/Ro e/ou SSB/La, 69,2% apresentam sintomas sugestivos de SS, como olho seco (15,4%), boca seca (15,4%), vermelhidão (ou queimação) nos olhos (46,1%) e aumento de parótidas (0%).

O paciente com FAN padrão nuclear pontilhado centromérico (título 1:2560; Código 53), fortemente associado à esclerodermia com CREST, além de queixas articulares, apresenta sintomas como disfagia à sólidos, fenômeno de Raynaud, esclerodactília e telangiectasias, que corroboram para um possível diagnóstico clínico.

A paciente para a qual se sugere o diagnóstico de esclerodermia sistêmica apresenta o FAN com padrão nucleolar homogêneo e nuclear pontilhado fino (título 1:320; Código 59), ambos relacionados à esclerodermia, além de diagnóstico prévio de LES.

5.5 CO-MORBIDADES PREVIAMENTE DIAGNOSTICADAS NOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICAS

Trinta e dois pacientes (53,3%; 32/60) apresentavam outras doenças imunologicamente mediadas diagnosticadas previamente ao estudo, sendo 31,2% (10/32) do sexo masculino e 68,8% (22/32) do sexo feminino (média de idade: 44,6 anos). Sete pacientes apresentaram mais de uma doença concomitante.

A relação das co-morbidades e suas frequências encontra-se detalhada na tabela 16.

TABELA 16 – CO-MORBIDADES PRÉVIAS NOS PACIENTES COM DAI DO FÍGADO

DOENÇA	% (N)
Lúpus eritematoso sistêmico	11,7 (7/60)
Doenças da Tireóide	13,3 (8/60)
Artrite reumatóide	5 (3/60)
Miastenia graves	3,3 (2/60)
Vitiligo	3,3 (2/60)
Dermatopolimiosite	3,3 (2/60)
Psoríase	1,7 (1/60)
Doença celíaca	1,7 (1/60)
Gastríte atrófica	1,7 (1/60)
Doença mista do tecido conjuntivo	1,7 (1/60)
RCU	13,3 (8/60)
Imunodeficiência comum variada	1,7 (1/60)

Dentre as doenças da tireóide tem-se doença de Graves, tireoidite de Hashimoto/hipotireoidismo, hipotireoidismo pós-iodo e secundário ao interferon.

Os marcadores sorológicos realizados no estudo permitiram sugerir a presença de outras co-morbidades em um total de 33,3% (20/60) dos pacientes (Tabela 15), sendo LES em 8,3% (5/60), SS em 21,6% (13/60), AR em 6,7% (4/60), DMTC em 1,7% (1/60), CREST em 1,7% (1/60), esclerose sistêmica em 1,7% (1/60) e DC em 6,7% (4/60). Dentre os 4 pacientes positivos para EmA-IgA/anti-tTG concomitantes, os anticorpos detectados em 2 destes não permitiram associação clínico-laboratorial com DAI sistêmicas. Ambos possuem CEP.

A Tabela 17 permite observar como as co-morbidades pré-existentes (32 pacientes) e as co-morbidades sugeridas pelas análises (20 pacientes) se encontram distribuídas no total de pacientes com DAI hepáticas em estudo.

Os pacientes encontram-se sob avaliação nos respectivos ambulatórios do Hospital de Clínicas da UPFR, para esclarecer o valor dos achados.

TABELA 17 – DISTRIBUIÇÃO DAS CO-MORBIDADES PRÉVIAS E CO-MORBIDADES SUGERIDAS NOS PACIENTES COM DAI HEPÁTICAS

DAI	CO-MORBIDADES PRÉVIAS	CO-MORBIDADES SUGERIDAS
	53,3% (N=32)	33,3% (N=20)
HAI	31,3% (10/32)	40% (8/20)
CBP	12,5% (4/32)	10% (2/20)
CEP	28,1% (9/32)	15% (3/20)
SSP	28,1% (9/32)	35% (7/20)

Os dados apresentados permitem ver, em paralelo às co-morbidades já diagnosticadas, a semelhança de proporções relativas àquelas que os marcadores sorológicos em análise sugeriram.

Os inúmeros estudos na literatura mundial respaldam os achados e a constatação da forte predisposição genética dos pacientes com hepatopatias autoimunes a desenvolverem mais de uma DAI simultaneamente (WATT, JAMES, JONES, 2004; TEUFEL et al., 2010). Somente a associação dos marcadores sorológicos com dados clínicos e histopatológicos dos pacientes permitirá confirmar o diagnóstico e ter a real prevalência das co-morbidades em análise na nossa população de pacientes, que poderá elevar ao dobro o índice das co-morbidades já existentes.

Dentre os 60 pacientes em estudo, 15% (9/60; Tabela 8) relataram ter familiar com outras DAI. Esses dados tem sido demonstrados com ênfase nos relatos de outros autores (YOSHIDA et al., 2009; YANAGISAWA et al., 2010) e ressaltam a predisposição genética para o desenvolvimento dessas doenças, dentro da mesma família, bem como a necessidade e contribuição de estudos que possam levar a uma maior compreensão da fisiopatogenia das mesmas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As DAI do fígado tem sido alvo de milhares de pesquisas nas últimas décadas (INVERNIZZI, MACKAY, 2008; MURATORI et al., 2008). Ainda assim, o caráter autoimune, debilitante, que culmina com complicações clínicas, transplante de fígado ou óbito de inúmeros pacientes, se sobrepõem aos avanços nos recursos laboratoriais, clínicos e terapêuticos.

Estudos recentes demonstram o número crescente de anticorpos explorados nos pacientes com hepatopatias autoimunes (BOGDANOS et al., 2008; BIZZARRO et al., 2010; HU et al., 2010), aliados à busca da compreensão da participação desses na fisiopatogenia da doença e de seu papel como instrumento de diagnóstico.

Doze meses de coleta semanal no Ambulatório de Hepatologia do HC-UFPR permitiram reunir o total de pacientes em estudo. Foram realizados acima de 26 ensaios laboratoriais por paciente, que aliados ao levantamento de dados dos prontuários e entrevistas individuais, permitiram compilar e organizar os dados demonstrados. Tem-se como expectativa que as informações obtidas pela análise conjunta dos resultados tragam conhecimento amplo das características clínico-laboratoriais que particularizam nossa população de pacientes. Entendeu-se que é possível requisitar os testes e interpretar os resultados laboratoriais, de uma nova forma, dentro do contexto clínico de cada indivíduo. Espera-se que tal experiência possa contribuir com outros serviços que prestam atendimento à hepatopatas crônicos.

O elevado índice de SSP caracterizado nos pacientes em estudo, a concomitância de autoanticorpos relacionados a mais de uma co-morbidade autoimune sistêmica no mesmo paciente, as DAI prévias presentes em inúmeros pacientes e a ocorrência de DAI em outros familiares dos mesmos, corroboram a predisposição ao desenvolvimento de DAI nesses indivíduos. Vários dos autoanticorpos detectados no estudo podem estar relacionados a DAIs ainda assintomáticas, tornando-se marcadores precoces de doença.

Portanto, o acompanhamento dos pacientes que apresentaram tal positividade poderá contribuir de maneira significativa no manejo terapêutico precoce e adequado, bem como na diminuição da morbi-mortalidade relacionada às DAI do fígado.

7 CONCLUSÕES

A análise dos dados do estudo levou às seguintes conclusões:

- Pacientes com DAI do fígado apresentaram aumento significativo na positividade dos autoanticorpos relacionados ao diagnóstico da doença (AML, AMA, LKM, FAN e ANCA), em relação aos indivíduos sadios da mesma área geográfica (sexo e idade), independente da fase da doença em que se encontram;
- A tendência à maior frequência desses anticorpos na SSP em relação às outras hepatopatias relaciona-se ao fato desta ser composta pela combinação HAI/CBP ou HAI/CEP;
- A positividade dos anticorpos relacionados ao diagnóstico não dependeu do sexo do paciente, faixa etária e idade ao diagnóstico. O significativo aumento na frequência destes na faixa de 0 a 2 anos de duração de doença ressalta o valor da avaliação precoce em hepatopatias crônicas;
- A associação clínico-laboratorial mostrou ser indispensável a solicitação e interpretação do conjunto de anticorpos simultaneamente. Dados isolados de cada marcador podem levar a interpretação equivocada e comprometimento no diagnóstico;
- A interpretação clínico-laboratorial fidedigna dos padrões de fluorescência do FAN-HEp-2 é relevante e pode direcionar o diagnóstico de HAI, CBP e/ou doenças do colágeno, aliado aos biomarcadores específicos das doenças;
- A significativa correlação entre AMA e FAN padrão citoplasmático pontilhado reticulado é dado pioneiro em pacientes do sul do Brasil e sugere que a positividade concomitante de ambos é de real contribuição no diagnóstico da CBP e/ou SSP (HAI/CBP);

- O aumento significativo do p-ANCA atípico em relação ao AML em pacientes com HAI e com SSP sugere que o mesmo constitui um instrumento de diagnóstico nas situações em que o AML não é detectado;
- A alta prevalência do p-ANCA atípico em pacientes com CEP, a maioria com duração de doença >2-10 anos, sugere a persistência do marcador mesmo em paciente sob acompanhamento a longa data;
- A revisão histopatológica confirmou até o momento o diagnóstico de SSP em 6 dos 12 pacientes sugeridos pela triagem sorológica corrobora o papel dos biomarcadores como ferramenta de diagnóstico;
- A baixa frequência dos anticorpos anti-GP210 e anti-centrômero nos pacientes, aliada a ausência de positividade em pacientes com insuficiência hepática e hipertensão portal já estabelecidos clinicamente, sugere influência da sensibilidade do kit e/ou método empregados;
- A frequência dos autoanticorpos relacionados às co-morbidades órgão específicas e/ou sistêmicas foi significativamente elevada nos pacientes em relação aos indivíduos sadios da mesma área geográfica;
- A positividade dos anticorpos relacionados às co-morbidades independe do sexo do paciente, faixa etária, idade ao diagnóstico e tempo de duração da doença, ressaltando ao clínico a necessidade de investigar outras DAI concomitantes às hepatopatias autoimunes, inclusive na ausência de sintomas;
- A elevada positividade do anti-tTG sugere reações falso positivo decorrente de lesão tecidual. Apenas pacientes positivos concomitantes para EmA-IgA e anti-tTG deverão ser submetidos à EDA e biópsia para confirmação de diagnóstico de DC;

- O anti-CCP mostrou aumento significativo nos pacientes em relação aos controles. A positividade deste e do FR apenas em pacientes do sexo feminino e a concomitância de ambos em 2 pacientes, em altos títulos, sugere elevado risco de desenvolverem AR;
- A análise conjunta do painel de biomarcadores para co-morbididades autoimunes sistêmicas sugeriu a ocorrência de doenças em 18 pacientes. A confirmação do diagnóstico prévio em 5 desses e a característica de marcadores precoces de doença dos anticorpos avaliados sugerem necessidade de rígido seguimento clínico-laboratorial nos mesmos;
- O elevado índice de SSP e a presença significativa dos biomarcadores de co-morbididades autoimunes nos pacientes com DAI hepática em estudo sugerem marcante envolvimento de fatores genéticos e ambientais no desenvolvimento das mesmas, e necessidade de estudos que tragam maior compreensão da fisiopatogenia das hepatopatias autoimunes.

REFERÊNCIAS

ABBAS G, JORGENSEN RA, LINDOR KD. Fatigue in primary biliary cirrhosis. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**. 2010. 7(6):313-9.

ALETAHA D, NEOGI T, SILMAN AJ, FUNOVITS J, FELSON DT, BINGHAM CO 3RD, BIRNBAUM NS, BURMESTER GR, BYKERK VP, COHEN MD, COMBE B, COSTENBADER KH et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. **Arthritis Rheum**. 2010. 62(9):2569-2581.

ANSALDI N, PALMAS T, CORRILAS A, et al. Autoimmune thyroid disease and celiac disease in children. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**. 2003. 37:63-66.

ARON JH, BOWLUS C. The immunobiology of primary sclerosing cholangitis. **Semin Immunopathol**. 2009. 31:383-397.

ARULPRAKASH S, SASI AD, BALA MR, PUGAZHENDHI T, KUMAR SJ. Overlap syndrome: autoimmune hepatitis with primary biliary cirrhosis. **J Assoc Physicians India**. 2010. 58:455-456.

BAI J, ZEBALLOS E, FRIED M, CORAZZA GR, SCHUPPAN D, FARTHING MJG, CATASSI C, GRECO L, COHEN H, KRABSHUIS JH. Celiac Disease. **World Gastroenterol News**. 2005. 10:1-8.

BARCELLOS KSA, ANDRADE LEC. Histopathology and Immunopathology in Minor Salivary Glands of Patients with Sjögren's Syndrome (SSj). **Rev Bras Reumatol**. 2005. 45(4): 215-23.

BAPTISTA ML, KODA YK, MITSUNORI R, NISHIHARA RM, IOSHII SO. Prevalence of celiac disease in Brazilian children and adolescents with type 1 *diabetes mellitus*. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**. 2005. 41:621-624.

BARBERO VA, MORENO MJA, MORENO BR, MORENO OR. Hepatic involvement in celiac disease. **Gastroenterol Hepatologia**. 2008. 31(1):25-8.

BARBIERE R, CHIEREGHIN A. Síndrome de Sjögren. **Temas de Reumatologia Clínica**. 2009. 10(3):88-93.

BAUER A, HABIOR A. Measurement of gp210 autoantibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. **J Clin Lab Anal**. 2007. 21(4):227-31.

BÉLAND K, LAPIERRE P, ALVAREZ F. Influence of genes, sex and environment on the onset of autoimmune hepatitis. **World J Gastroenterol**. 2009. 15(9):1025-1034.

BERGWITZ C, BRABANT G, TRAUTWEIN C, MANNS MP. A patient with autoimmune hepatitis type I, Addison's disease, atrophic thyroiditis, atrophic gastritis, exocrine pancreatic insufficiency, and heterozygous alpha1-antitrypsin deficiency. **Am J Gastroenterol**. 2002. 97(4): 1050-2.

BIGAZZI PE, ROSE NR. Pruebas para anticuerpos contra antígenos tissulares específicos. In: **El Laboratorio en Immunologia Clinica**. Editorial Medicina Pan Americana, 1984. (2):986-987.

BIZZARO N, VILLALTA D, TONUTTI E, DORIA A, TAMPOIA M, BASSETTI D, TOZZOLI R. IgA and IgG tissue transglutaminase antibody prevalence and clinical significance in connective tissue diseases, inflammatory bowel disease, and primary biliary cirrhosis. **Dig Dis Sci**. 2003. 48(12):2360-2365.

BJÖRNSSON E. Management of primary sclerosing colangitis. **Minerva Gastroenterol Dietol**. 2009. 55(2):163-72.

BLOCH BD, YU WH, YANG WH, GRAEME-COOK F, LINDOR KD, VISWANATHAN A, BLOCH KD, NAKAJIMA A. The cytoplasmatic dot staining pattern is detected in a subgroup of patients with primary biliary cirrhosis. **J Rheumatol**. 2005. 32(3):477-483.

BOGDANOS DP, INVERNIZZI P, MACKAY IR, VERGANI D. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. **World J Gastroenterol**. 2008. 14(21):3374-87.

BOGDANOS DP, MIELI-VERGANI G, VERGANI D. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. **Semin Liver Dis**. 2009. 29(3):241-253.

BOGDANOS DP, KOMOROWSKI L. Disease-specific autoantibodies in primary biliary cirrhosis. **Clin Chim Acta**. 2011. 412(7-8):502-512.

BRASIL. Portaria SCTIE nº 70 de 06 de novembro de 2006. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas. **Ministério da Saúde**, Brasília, data 06/11/2006. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/pcdt_hepatite%20auto%20imune_2006.pdf. Acesso em 10/02/2011.

BUREK CL, ROSE NR. Autoantibodies. In: COLVIN RB, BHAN AK, McMLUSKEY RT. **Diagnostic Immunopathology**. New York: Raven Press. 1995. 2:207-230.

BURNEVICZ EZ, LOPATKINA TN. System manifestations of primary biliary cirrhosis. **Klin Med (Mosk)**. 2006. 84(12):42-6.

CABRAL VLR, MISZPUTEN SJ, CATAPANI WR. Anticorpo anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) em pioderma gangrenoso, um marcador sorológico para associação com doenças sistêmicas: estudo de oito casos. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. 2004. 79(1):39-44.

CALICH I. Doenças autoimunes. In: FERRI, RG; CALICH, VLG; VAZ, CAC. **Imunologia**. 2 ed. Artes Médicas, São Paulo. 1979. 274-305.

CANÇADO ER. Diagnóstico e Tratamento das Formas Clássicas da Hepatite Autoimune. In: Castro LP, Savassi-Rocha PR, Filho JG, et al. **Tópicos em Gastroenterologia**. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999. 225-41.

CARAMELLA, C AVOUAC J, SOGNI P, PUÉCHAL X, KAHAN A, ALLANORE Y. Association between rheumatoid arthritis and primary biliary cirrhosis. **Joint Bone Spine**. 2007. 74(3):279-81.

CASTRO-E-SILVA JR O, SANKARANKUTTY AK, OLIVEIRA GR, PACHECO E, RAMALHO FS, SASSO KD, TOLENTINO E, MENTE ED, FRANÇA AVC, MARTINELLI ALC. Transplante de fígado: indicação e sobrevida. **Acta Cirúrgica Brasileira**. 2002. 17 (3):83-91.

CHAPMAN R, CULLEN S. Etiopathogenesis of primary sclerosing cholangitis. **World J Gastroenterol**. 2008. 14(21):3350-3359.

CHOI DH, KIM HK, PARK TI, JOHN BM, KANG SH, LEE YS, KIM TH, LEE UI, LEE TS, YOON GO. A case of anti-LKM 1 positive autoimmune hepatitis accompanied by systemic lupus erythematosus. **Korean J Gastroenterol**. 2008. 51(3):190-3.

CHOU MJ, LAI MY, LEE SL. Reactivity of anti-mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis and systemic sclerosis. **J From Med Ass**. 1992. 91:1075-80.

CHUNG C-S, HSU Y-S, HUANG S-Y, JENG Y-M, CHEN C-H. Primary biliary cirrhosis associated with pernicious anemia. **Can Fam Physician**. 2010. 56:889-891.

CLEMENTE MG, MUSU MP, FRAU F, LUCIA C, DE VIRGILIS S. Antitissue transglutaminase antibodies outside celiac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**. 2002. 34(1):31-34.

COLECCHIA A, DI BIASE AR, SCAIOLI E, FESTI D. Coeliac disease and autoimmune hepatitis: Gluten-free diet can influence liver disease outcome. **Dig Liver Dis**. 2011. 43(3):247.

COROMINAS H, FÍGULS R, RIERA M. Enfermedades Sistémicas Autoinmunitarias: Síndrome de Sjögren. **Reumatol Clin**. 2008. 4. 1:S22-7.

CRISTANSSON J. Corneal changes in a case of hepatitis. **Acta Ophthalmol (Copenh)**. 1954. 32:161-164.

CZAJA AJ, MORSHED SA, PARVEEN S, NISHIOKA M. Antibodies to single-stranded and double-stranded DNA in antinuclear antibody-positive type 1-autoimmune hepatitis. **Hepatology**. 1997. 26(3):567-72.

CZAJA AJ, HOMBURGER HA. Autoantibodies in liver disease. **Gastroenterol**. 2001. 120:239-49.

CZAJA AJ. Treatment of autoimmune hepatitis. **Semin Liver Disease**. 2002. 22(4):365-78.

CZAJA AJ. Difficult treatment decisions in autoimmune hepatitis. **World J Gastroenterol**. 2010a. 16(8):934-947.

CZAJA AJ. Autoantibodies as Prognostic Markers in Autoimmune Liver Disease. **Dig Dis Sci**. 2010 b. 55:2144-2161.

CZAJA AJ. Performance Parameters of the Conventional Serological Markers for Autoimmune Hepatitis. **Dig Dis Sci**. 2011. 56:545-554.

DE BLOCK CE, DE LEEUW IH, PELCKMANS PA, MICHIELSEN PP, BOGERS JJ, VAN MARCK EA, VEM GAAL LF. Autoimmune hepatitis, autoimmune gastritis, and gastric carcinoid in a type 1 diabetic patient: a case report. **J Diabetes Complications**. 2000. 14(2):116-20.

DEEN M, PORTA G, FIOROT F, CAMPOS L, SALLUM A, SILVA C. Autoimmune hepatitis and juvenile systemic lupus erythematosus. **Lupus**. 2009. 18(8):747-51.

DEFRIM R, SHRAMM L, ELI I. Gender role expectations of pain is associated with pain tolerance limit but not with pain threshold. **Pain**. 2009. 145(1-2):230-236.

DELLAVANCE A, GABRIEL AJ, CINTRA AFU, XIMENES AC, NUCCITELLI B, TABILERTI BH, et al. I Consenso Nacional para Padronização dos Laudos de FAN HEp-2. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina laboratorial**. 2002. 38(3):201-216.

DELLAVANCE A, GABRIEL AJ, CINTRA AFU, XIMENES AC, NUCCITELLI B, TABILERTI BH, et al. II Consenso Brasileiro de fator antinuclear em células Hep-2. **Rev Bras Reumatol**. 2003. 43(3):129-140.

DELLAVANCE A, GABRIEL AJ, NUCCITELLI B, TABILERTI BH, VON MUHLEN CA, BICHARA CDA, et al. III Consenso Brasileiro de fator antinuclear em células Hep-2. **Rev Bras Reumatol**. 2009 49(2):89-109.

DOHMEN K, SHIGEMATSU H, MIYAMOTO Y, YAMASAKI F, IRIE K, ISHIBASHI H. Atrophic corpus gastritis and *Helicobacter pylori* infection in primary biliary cirrhosis. **Dig Dis Sci**. 2002. 47(1):162-9.

EFE C, PURNAK T, OZASLAN E. Concurrent autoimmune thyroid diseases in patients with autoimmune hepatitis. **J Clin Gastroenterol**. 2010. 44(9):660-661.

EGNER W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. **J Clin Pathol**. 2000. 53:424-432.

FELD JJ, HEATHCOTE EJ. Epidemiology of autoimmune liver disease. **J Gastroenterol Hepatol**. 2003. 18:1118-1128.

FELDMANN M, BRENNAN FM. Rheumatoid arthritis. **Cell**. 1996. 85:307-310.

FIKE DJ. Non-organ-specific autoimmune disease. In: SHEEHAN, C. **Clin Immunol**, 2 ed. Philadelphia: Lippincott, 1997a. p. 283-96.

FIKE DJ. Organ-specific autoimmune disease. In: SHEEHAN, C. **Clin Immunol**. 2 ed. New York: Lippincott, 1997b. 297-304.

FRICHE-PASSOS MC, MEDEIROS JL. Cirrose Biliar Primária – Síndrome de Superposição. In: CASTRO LP, SAVASSI-ROCHA PR, FILHO JG, et al. **Tópicos em Gastroenterologia 9**. São Paulo: Fundação Byk 2001:243-54.

GALATI S, BEAUVILLAIN C, RENIER G, JEANNIN P, MASSON C, CHEVAILLER A. [Comparison and relevance of rheumatoid factors, antikeratin antibodies and anti-cyclic citrullinated peptides antibodies in rheumatoid arthritis]. **Ann Biol Clin**. 2008. 66(2):157-64.

GAO L, TIAN X, LIU B, ZHANG F. The value of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. **Clin Exp Med**. 2008. 8(1):9-15.

GISH RG, MANSON A. Autoimmune Liver Disease. Current standards, future directions. **Clin Liver Dis**. 2001. 5(2):287-314.

GOELDNER I, SKARE TL, DE MESSIAS REASON IT, NISHIHARA RM, SILVA MB, DA ROSA UTIYAMA SR. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in rheumatoid arthritis patients and relatives from Brazil. **Rheumatology**. 2010. 49:1590-1593.

GOELDNER I, SKARE TL, DE MESSIAS REASON IT, NISHIHARA RM, SILVA MB, DA ROSA UTIYAMA SR. Autoantibodies for gastrointestinal organ-specific autoimmune diseases in rheumatoid arthritis patients and their relatives. **Clin Rheumatol**. 2011a. 30(1):99-102.

GOELDNER I, SKARE TL, DE MESSIAS REASON IT, NISHIHARA RM, SILVA MB, DA ROSA UTIYAMA SR. Association of anticyclic citrullinated peptide antibodies with extra-articular manifestations, gender, and tabagism in rheumatoid arthritis patients from southern Brazil. **Clin Rheumatol**. 2011b. [Epub ahead of print]

GOODSON NJ, FARRAGHER TM, SYMMONS DP. Rheumatoid factor, smoking, and disease severity: associations with mortality in rheumatoid arthritis. **J Rheumatol**. 2009. 35(6):945-9.

GÓMEZ-PUERTA JA, BURLINGAME RW, CERVERA R. Anti-chromatin (anti-nucleosome) antibodies: Diagnostic and clinical value. **Autoimmun Rev**. 2008. 7(8):606-611.

GONZÁLEZ-HUEZO M, RUIZ-MEJÍA R, ROSALES-SOLÍS A, CARRILLO-PONCE C. Primary sclerosing cholangitis of small ducts, associated with eosinophilic gastroenteritis. Case report and literature review. **Rev Gastroenterol Mex**. 2008.73(4):242-6.

GOW PJ, FLEMING KA, CHAPMAN RW. Primary sclerosing cholangitis associated with rheumatoid arthritis and HLA DR4 : is the association a marker of patients with progressive liver disease? **J Hepatol**. 2001. 34(4):631-5.

GRANITO A, MURATORI L, MURATORI P, PAPPAS G, GUIDI M, CASSANI F, VOLTA U, FERRI A, LENZI M, BIANCHI FB. Antibodies to filamentous actin (f-actin) in type 1 autoimmune hepatitis. **J Clin Pathol**. 2006. 59(3):280-4.

GRANITO A, MURATORI P, MURATORI L, PAPPAS G, CASSANI F, WORTHINGTON J, et al. Antibodies to SS-A/Ro-52kD and centromere in autoimmune liver disease: a clue to diagnosis and prognosis of primary biliary cirrhosis. **Aliment Pharmacol Ther**. 2007. 26(6):831-8.

GRANITO A, MURATORI P, FERRI S, PAPPAS G, QUARNETI C, LENZI M, BIANCHI FB, MURATORI L. Diagnosis and therapy of autoimmune hepatitis. **Mini Rev Med Chem**. 2009. 9(7):847-60.

GRUPO DE TRANSPLANTE HEPÁTICO HOSPITAL SÍRIO-LIBANES. Disponível em: http://www.hospitalsiriolibanes.org.br/pacientes_acompanhantes/nucleo_figado/doencas_hepaticas/transplante_hepatico/transplante_hepatico.asp. Acesso em: 10/01/2011.

HAMER RJ. Coeliac disease: background and biochemical aspects. **Biotechnol Adv**. 2005. 23:401-408.

HATZIS GS, FRAGOULIS GE, KARATZAFERIS A, DELLADETSIMA I, BARBATIS C, MOUTSOPOULOS HM. Prevalence and longterm course of primary biliary cirrhosis in primary Sjögren syndrome. **J Rheumatol**. 2008. 35(10):2012-6.

HELLMANN DB, STONE JH. Arthritis & musculoskeletal disorders. In: TIERNEY IM. **Curr Med Diag Treat**. 43rd ed. New York: McGraw-Hill. 2004. 797-825.

HERSHKO AY, NAPARSTEK Y. Autoimmunity in the era of Genomics and Proteomics. **Autoimmun Rev**. 2006. (5):230-233.

HIRSCHFIELD GM, LIU X, XU C, LU Y, XIE G, LU Y, et al. Primary Biliary Cirrhosis Associated with HLA, IL12A, and IL12RB2 Variants. **New Engl J Med**. 2009. 360.

HOHENESTER S, RONALD PJ, OUDE-ELFERINK RP, BEUERS U. Primary biliary cirrhosis. **Semin Immunopathol**. 2009. 31:283-307.

HUANG CM, YANG YH, CHIANG BL. Different familial association patterns of autoimmune diseases between juvenile-onset systemic lupus erythematosus and juvenile rheumatoid arthritis. **J Microbiol Immunol Infect**. 2004. 37(2):88-94.

INVERNIZZI P, PODDA M, BATTEZZATI PM, CROSIGNANI A, ZUIN M, HITCHMAN E, MAGGIONI M, MERONI PL, PENNER E, WESIERSKA-GADEK J. Autoantibodies against nuclear pore complexes are associated with more active and severe liver disease in primary biliary cirrhosis. **J Hepatology**. 2001. 34(3):366-72.

INVERNIZZI P, SELMI C, RANFTLER C, PODDA M, WESIERSKA-GADEK J. Antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. **Semin Liver Dis**. 2005. 25:298-310.

INVERNIZZI PP, MACKAY IR. Autoimmune liver diseases. **World J Gastroenterol**. 2008. 14(21):3290-3291.

IPPOLITO A, WALLACE DJ, GLADMAN D, FORTIN P, UROWITZ M, WERTH V, COSTNER M, GORDON C, ALARCÓN G et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. **Lupus**. 2011. 20(3):250-255.

IRVING KS, SEN D, TAHIR H, PILKINGTON C, ISENBERG DA. A comparison of autoimmune liver disease in juvenile and adult populations with systemic lupus erythematosus - a retrospective review of cases. **Rheumatology**. 2007. 46(7):1171-3.

JANEWAY JR, TRAVERES P, WALPORT M, SHLOMCHIK MJ. **Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença**. Porto Alegre: Artmed. 2007. 6 ed. 848.

JONES DF, DONALDSON PT. Genetic factors in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis. **Clin Liver Dis**. 2003. 7(4):841-64.

KADOKAWA Y, OMAGARI K, MATSUO I, OTSU Y, YAMAMOTO U, NISHINO T, OHBA K, MIYAZAKI M, HARADA T, TAGUCHI T, KOHNO S. Primary sclerosing cholangitis associated with lupus nephritis: a rare association. **Dig Dis Sci**. 2003. 48(5):922-4.

KAGNOFF MF. Overview and pathogenesis of celiac disease. **Gastroenterol**. 2005. 128(4) supplement 1:S10-S18.

KARLSEN TH, ERIK SCHRUMPF E, BOBERG KM. Primary sclerosing cholangitis. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**. 2010. 24:655–666.

KARP JK, AKPEK EK, ANDERS RA. Autoimmune hepatitis in patients with primary Sjögren's syndrome: a series of two-hundred and two patients. **Int J Clin Exp Pathol**. 2010. 3(6):582-586.

KAUKINEN K, HALME L, COLLIN P, FARKKILA M, MAKI M, VEHMANEN P, PARTANEN J, HOCKERSTEDT K. Celiac disease in patients with severe liver disease: gluten-free diet may reverse hepatic failure. **Gastroenterol**. 2002. 122(4):881-8.

KOGA T, MIGITA K, MIYASHITA T, MAEDA Y, NAKAMURA M, ABIRUS S, et al. Determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the sera of patients with liver diseases. **Clin Exp Rheumatol**. 2008. 26(1):121-4.

KOKKOLA A, SJOBLUM SM, HAAPIAINEN R, SIPPONEN P, PUOLAKKAINEN P, JÄRVINEN H. The risk of gastric carcinoma and carcinoid tumours in patients with pernicious anemia: a prospective follow-up study. **Scand J Gastroenterol**. 1998. 33:88-92.

KOTZE LM, UTIYAMA SR, NISHIHARA RM, DE CAMARGO VF, IOSHII SO. IgA class antiendomysial and anti-tissue transglutaminase antibodies in relation to duodenal mucosa changes in celiac disease. **Pathology**. 2003. 1(35):56-60.

DA SILVA KOTZE LM, NISHIHARA RM, DA ROSA UTIYAMA SR, PIOVEZAN GC, KOTZE LR. Thyroid disorders in Brazilian patients with celiac disease. **J Clin Gastroenterol**. 2006. 40(1):33-36.

KOURAKLIS G, GLINAVOU A, KARATZAS G. Primary biliary cirrhosis accompanied by CREST syndrome. **South Med J**. 2002. 95(9):1058-9.

KRAWITT EL. Autoimmune hepatitis. **N Engl J Med**. 2006. 354:54.

KUDO-TANAKA E, OHSHIMA S, ISHII M, MIMA T, MATSUSHITA M, AZUMA N, HARADA Y, KATADA Y, IKEUE H, UMESHITA-SASAI M, MIYATAKE K, SAEKI Y. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptide 2 (CCP2) are superior to other potential diagnostic biomarkers for predicting rheumatoid arthritis in early undifferentiated arthritis. **Clin Rheumatol**. 2007. 26(10):1627-33.

KUMAGI T, HEATHCOTE EJ. Primary biliary cirrhosis. **Orphanet J Rare Dis.** 2008. 3: 1.

LACERDA MA. Colangite esclerosante primária.. In: KALIL AN, COELHO J, STRAUS E. **Fígado e vias biliares – clínica e cirurgia.** Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2001. 252-254.

LACERDA MA, BLOOMER JR. Cirrose biliar primária.. In: KALIL AN, COELHO J, STRAUS E. **Fígado e vias biliares – clínica e cirurgia.** Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2001. 248-251.

LADINSER B, ROSSIPAL E, PITTSCHIER K. Endomysium antibodies in celiac disease: an improved method. **GUT.** 1994. 6(35):776-778.

LAHNER E, BERNARDINI G, POSSENTI S, RENZONE G, SCALONI A, SANTUCCI A, ANNIBALE B. Immunoproteomics of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic body gastritis, a predisposing condition for gastric cancer. **Int J Med Microbiol.** 2010. [Epub ahead of print].

LEE AN, BECK CE, HALL M. Rheumatoid factor and anti-CCP autoantibodies in rheumatoid arthritis: A review. **Clin Lab Sci.** 2008. 21(1):15-18.

LI J, LUO J, XU W, ZHANG XX, YUAN ZL, SHEN B. [Clinical significances of combined detections of autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus]. **Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.** 2010. 39(4):390-394.

LINDKVIST B, BENITO DE VALLE M, GULLBERG B, BJÖRNSSON E. Incidence and prevalence of primary sclerosing cholangitis in a defined adult population in Sweden. **Hepatology.** 2010. 52(2):571-7.

LIU B, ZHANG FC, ZHANG ZL, ZANG W, GAO LX. Interstitial lung disease and Sjögren's syndrome in primary biliary cirrhosis: a causal casual association. **Clin Rheumatology.** 2008. 27(10):1299-306.

LLEO A, INVERNIZZI P, MACKAY IR, PRINCE H, ZHONG R-Q, GERSHWIN ME. Etiopathogenesis of primary biliary cirrhosis. **World J Gastroenterol.** 2008. 14(21):3328-3337.

LO CC, HSU PI, LO GH, LAI KH, TSENG HH, LIN CK, CHAN HH, TSAI WL, CHEN WC, PENG NJ. Implications of anti-parietal cell antibodies and anti-*Helicobacter pylori* antibodies in histological gastritis and patient outcome. **World J Gastroenterol.** 2005. 14;11(30):4715-20.

LUDVIGSSON JF, ELFSTRÖM P, BROOMÉ U, EKBOM A, MONTGOMERY SM. Celiac disease and risk of liver disease: a general population-based study. **Clin Gastroenterol Hepatol.** 2007. 5(1):63-69.

LUTH`S, WEILER-NORMANN C, SCHRAMM C, LOHSE AW. Autoimmune liver diseases. **Internist (Berl) (Der Internist)**. 2009. 50(3):310-7.

MACKAY IR. Historical reflections on autoimmune hepatitis. **World J Gastroenterol**. 2008. 14(21):3292-3000.

MANAVALAN JS, et al. Aging and autoimmunity. In: ROSE NR, MACKAY IR, eds. **The autoimmune diseases**. San Diego: Academic Press. 1998. 783-794.

MARIGNANI M, DELLE FAVE G, MECAROCCI S, BORDI C, ANGELETTI S, D'AMBRA G, APRILE MR, CORLETO VD, MONARCA B, ANNIBALE B. High prevalence of atrophic body gastritis in patients with unexplained microcytic and macrocytic anemia. **Am J Gastroenterol**. 1999. 94:766-772.

MATSUMOTO T, MORIZANE T, AOKI Y, YAMASAKI S, NAKAJIMA M, ENOMOTO N, KOBAYASHI S, HASHIMOTO H. Autoimmune hepatitis in primary Sjogren's syndrome: pathological study of the livers and labial salivary glands in 17 patients with primary Sjogren's syndrome. **Pathol Int**. 2005. 55(2):70-76.

MIELI-VERGANI G, HELLER S, JARA P, VERGANI D, CHANG MH, FUJISAWA T, GONZÁLEZ-PERALTA RP, KELLY D, MOHAN N, SHAH U, MURRAY KF. Autoimmune hepatitis. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**. 2009. 49(2):158-64.

MIES S, JÚNIOR FA. Anatomia e fisiologia do fígado. In: KALIL AN, COELHO J, STRAUS E. **Fígado e vias biliares – clínica e cirurgia**. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2001. 3-10.

MIRZAAGHA F, AZALI SH, ISLAMI F, ZAMANI F, KHALILOPOUE E, KHATIBIAN M, MALEKZADEH R. Coeliac disease in autoimmune liver disease; a cross-sectional study and a systematic review. **Dig Liver Dis**. 2010. 42(9):620-623.

MIYACHI K, MIYAKAWA H, ODA M, HORIGOME T, FRITZLER MJ. Primary biliary cirrhosis and autoantibodies. **Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi**. 2008. 31(1):47-55.

MOLAVI DW. Liver. In: _____. **The practice of surgical pathology. A beginner's guide to the diagnostic process**. New York: Editora Springer. 2008. 82

MOTTERSHEAD M, NEUBERGER J. Transplantation in autoimmune liver diseases. **World J Gastroenterol**. 2008. 14(21):3388-3395.

MURATORI P, GRANITO A, PAPPAS G, PENDINO GM, QUARNETI C, CICOLA R, MENICHELLA R, FERRI S, CASSANI F, BIANCHI FB, LENZI M, MURATORI L. The serological profile of the autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome. **Am J Gastroenterol**. 2009. 104(6):1420-1425.

MUZZILLO DA, FUKUDA Y, HAYAKAWA T. Hepatite autoimune. In: KALIL AN, COELHO J, STRAUS E. **Fígado e vias biliares – clínica e cirurgia**. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2001. 255-267

NASS FR, KOTZE LM, NISHIHARA RM, DE MESSIAS-REASON IJ, RAMOS DA ROSA UTIYAMA S. Serological and clinical follow-up of relatives of celiac disease patients from southern Brazil. **Digestion**. 2011. 83(1-2):89-95.

NAKAMURA RM. Avaliação clínica e laboratorial das doenças reumáticas sistêmicas. In: HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. São Paulo: Manole. 1999. 1013–1024.

NAKAMURA M. The significance of anti-nuclear envelope (gp210) antibody in primary biliary cirrhosis. **Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi**. 2005. 28(3):117-22.

NAKAMURA M, KONDO H, MORI T, KOMORI A, MATSUYAMA M, ITO M, et al. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. **Hepatology**. 2007a. 45(1):118-27.

NAKAMURA T, HIGASHI S, TOMODA K, TSUKANO M, SUGI K. Primary biliary cirrhosis (PBC)-CREST overlap syndrome with coexistence of Sjögren's syndrome and thyroid dysfunction. **Clin Rheumatol**. 2007b. 26(4):596-600.

NELL-DUXNEUNER V, MACHOLD K, STAMM T, EBERL G, HEINZL H, HOEFLE E, SMOLEN JS, STEINER G. Autoantibody profiling in patients with very early rheumatoid arthritis: a follow-up study. **Ann Rheum Dis**. 2010. 69(1):169-74.

NISHIMURA K, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. **Ann Intern Med**. 2007. 146(11):797-808.

NISHIHARA RM, KOTZE LM, UTIYAMA SR, OLIVEIRA NP, FIEDLER PT, MESSIAS-REASON IT. Celiac disease in children and adolescents with Down Syndrome from southern Brazil. **J Pediatr**. 2005. 81:373-376.

OH DC, NG TM, HO J, LEONG KP. Systemic lupus erythematosus with concurrent protein-losing enteropathy and primary sclerosing cholangitis: a unique association. **Lupus**. 2006. 15(2):102-4.

ONOZUKA Y, SHIBATA M, YONEZAWA H, TERAUTI K, MIYACHI K, UENO Y. Clinical significance of anti-centromere antibody and anti-CENP-B antibody in sera of patients with primary biliary cirrhosis. **Rinsho Byori**. 1996. 44(9):877-82.

OO YH, HUBSCHER SG, ADAMS DH. Autoimmune hepatitis: new paradigms in the pathogenesis, diagnosis, and management. **Hepatol Int.** 2010. 4:475-493.

ORELLANA I, VALERA JM, NEI C, PONIACHIK J, BERGER Z, LATORRE R, SMOK G, BRAHM J. Primary sclerosing cholangitis: a twelve-year experience. **Rev Med Chil.** 2005. 133(7):776-780.

PIMENTEL SK. **Fatores de risco para recorrência de cirrose biliar primária após transplante hepático.** Curitiba, 2004. 35 p. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica – Setor de ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

PRODINGER WM, WURZNER R, STOIBER H. Complement. In: PAUL, W. E. **Fundamental Immunology.** 2003. (4)1077-1103.

RIZZETO M, SWANA G, DONIACH D. Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. **Clin Experim Immunol.** 1973. 15:331-344.

ROBERTS SK, THERNEAU TM, CZAJA AJ. Prognosis of histological cirrhosis in type 1 autoimmune hepatitis. **Gastroenterol.** 1996. 110(3):848-57.

RUBIN E, FARBER J.L. Fígado e vias biliares. In: _____. **Patologia.** Rio de Janeiro: Interlivros Edições LTDA. 1990. 640-713.

RUBIO-TAPIA A, ABDULKARIM AS, WIESNER RH, MOORE SB, KRAUSE PK, MURRAY JA. Celiac disease autoantibodies in severe autoimmune liver disease and the effect of liver transplantation. **Liver Int.** 2008. 28(4):467-476.

RUST C, BEUERS U. Overlap syndromes among autoimmune liver diseases. **World J Gastroenterol.** 2008. 14(21):3368-73.

SAICH R, CHAPMAN R. Primary sclerosing cholangitis, autoimmune hepatitis and overlap syndromes in inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol.** 2008. 14(3):331-337.

SALUNGA TL, CUI ZG, SHIMODA S, ZHENG HC, NOMOTO K, KONDO T, TAKANO Y, SELMI C, LPINI G, GERSHWIN ME, TSUNAYAMA K. Oxidative stress-induced apoptosis of bile duct cells in primary biliary cirrhosis. **J Autoimmun.** 2007. 29:78-86.

SANTIAGO M, BARON M, MIYACHI K, FRITZLER MJ, ABU-HAKIMA M, LECLERCG S, et al. A comparison of the frequency of antibodies to cyclic citrullinated peptides using a third generation anti-CCP assay (CCP3) in systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. **Clinic Rheumatol.** 2008. 27(1):77-83.

SCHWARZE C, TERJUNG B, LILIENWEISS P, BEUERS U, HERZOG V, SAUERBRUCH T, SPENGLER U. IgA class antineutrophil cytoplasmic antibodies in primary sclerosing cholangitis and autoimmune hepatitis. **Clin Exp Immunol**. 2003. 133:283–289.

SELMI C, COCCHI C. A, ZUIN M, GERSHWIN M. E. The Chemical Pathway to Primary Biliary Cirrhosis. **Clin Rev Allerg Immunol**. 2009. 36:23-29

SELMI C, GERSHWIN ME. The role of environmental factors in primary biliary cirrhosis. **Trends Immunol**. 2009.

SIEGEL JL, LUTHRA H, DONLINGER J, ANGULO P, LINDOR K. Association of primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. **J Clin Rheumatol**. 2003. 9(6):340-3.

SILVEIRA MG, LINDOR KD. Overlap syndromes with autoimmune hepatitis in chronic cholestatic liver diseases. **Expert Rev Gastroenterol Hepatol**. 2007 1(2):329-40.

SILVEIRA MG, LINDOR KD. Primary Sclerosing Cholangitis. **Can J Gastroenterol**. 2008. 22(8):689-98.

SILVEIRA MG, MENDES FD, DIEHL NN, ENDERS FT, LINDOR KD. Thyroid dysfunction in primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis and non-alcoholic fatty liver disease. **Liver Int**. 2009. 29(7):1094-1100.

SKARE TL, NISIHARA RM, HAIDER O, AZEVEDO PM, UTIYAMA SR. Liver autoantibodies in patients with scleroderma. **Clin Rheumatol**. 2011. 30(1):129-132.

SOMERS K, GEUSENS P, ELEWAUT D, DE KEYSER F, RUMMENS JL, COENEN M, BLOM M, STINISSEN P, SOMERS V. Novel autoantibody markers for early and seronegative rheumatoid arthritis. **J Autoimmun**. 2011. 36(1):33-46.

SONOMOTO K, MIYAMURA T, WATANABE H, TAKAHAMA S, NAKAMURA M, ANDO H, MINAMI R, YAMAMOTO M, SUEMATSU E. A case of systemic lupus erythematosus complicated with autoimmune hepatitis and thrombocytic purpura. **Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi**. 2009. 32(2):110-5.

STEFANIDIS I, GIANNOPOULOU M, LIAKOPOULOS V, DOVAS S, KARASAVVIDOU F, ZACHOU K, KOUKOULIS GK, DALEKOS GN. A cause of membranous nephropathy associated with Sjögren's syndrome, polymyositis and autoimmune hepatitis. **Clin Nephrology**. 2008. 70(3):245-50.

STINTON LM, SWAIN M, MYERS RP, SHAHEEN AA, FRITZLER MJ. Autoantibodies to GW bodies and other autoantigens in primary biliary cirrhosis. **Clin Exp Immunol**. 2011. 163(2):147-156.

STOJANOVICH L, MARISAVLJEVICH D. Stress as a trigger of autoimmune disease. **Autoimmun Rev.** 2008. (7):209-213.

STRASSBURG CP. Autoimmune hepatitis. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.** 2010. 24:667–682.

SUBASIĆ D, KARAMEHIĆ J, LJUCA F, GAVRANKAPETANOVIĆ F, DELIĆ-SARAC M, EMINOVIĆ I, KOVACEVIĆ D. Correlation of autoantibodies presence detected by IFA-anti-dsDNA, IFA-AMA and immunoblotting with corresponding data in clinical management of autoimmune diseases. **Bosn J Basic Med Sci.** 2008. 8(1):86-92.

SUGIU K, KAMADA T, ITO M, KAYA S, TANAKA A, KUSUNOKI H, HATA J, HARUMA K. Anti-parietal cell antibody and serum pepsinogen assessment in screening for gastric carcinoma. **Dig Liver Dis.** 2006. 5(38):303-307.

TAKAHASHI A, ABE K, YOKOKAWA J, IWADATE H, KOBAYASHI H, WATANABE H, IRISAWA A, OHIRA H. Clinical features of liver dysfunction in collagen diseases. **Hepatol Res.** 2010. 40(11):1092-1097.

TAKIGUCHI J, OHIRA H, RAI T, SHISHIDO S, TOJO J, SATO Y, KASUKAWA R, WATANABE H, FUNABASHI Y, KUMAKAWA H. Autoimmune Hepatitis Overlapping with Primary Sclerosing Cholangitis. **Internal Medicine.** 2002. 41: 696-700.

TAN EM, COHEN AS, FRIES JF, MASI AT, MCSHANE DJ, ROTHFIELD NF, SCHALLER JG, TALAL N, WINCHESTER RJ. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.** 1982. 25(11):1271-1277.

TEHLIRIAN CV, BATHON JM. Rheumatoid arthritis: clinical and laboratory manifestations. In: STONE, J.H., CROFFORD, L.J. WHITE, P.H. **Primer on the rheumatic diseases.** New York: Springer, 2008. 30:114-121.

TERJUNG B, SPENGLER U, SAUERBRUNCH T, WORMAN HJ. “Atypical p-ANCA” in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. **Gastroenterol.** 2000. 119-310.

TERJUNG B, SPENGLER U. Atypical p-ANCA in PSC and AIH: a hint toward a “leaky gut”? **Clin Rev Allergy Immunol.** 2009. 36(1):40-51.

TEUFEL A, GALLE PG, KANZLER S. Update on autoimmune hepatitis. **World J Gastroenterol.** 2009. 15(9):1035-1041.

TEUFEL A, WEINMANN A, KAHALY GJ, CENTNER C, PIENDL A, WÖRNS M, LOHSE AW, GALLE PR, KANZLER S. Concurrent autoimmune diseases in patients with autoimmune hepatitis. **J Clin Gastroenterol.** 2010. 44(3):208-213.

TURNER MW. et al. Evaluation of C3b/C3bi opsonization and chemiluminescence with selected yeasts and bacteria using sera of different opsonic potential. **Immunol.** 1986. 58:111-115.

USTA T, GURUKAN F, AKCOREN Z, OZEN S. An overlap syndrome involving autoimmune hepatitis and systemic lupus erythematosus in childhood. **World J Gastroenterol.** 2007. 13(19):2764-7.

UTIYAMA SRR, KOTZE LMS, NISHIHARA RM, CARVALHO RF, CARVALHO EG, SENA MG, MESSIAS-REASON IT. Spectrum of autoantibodies in celiac patients and relatives. **Dig Dis Sci.** 2001. 46(12):2624-2630.

UTIYAMA SRR, KOTZE LMS, MESSIAS-REASON, IT. Complement factor B allotypes in the susceptibility and severity of coeliac disease in patients and relatives. **Int J Immunogenet.** 2005. 32:307-314.

UTIYAMA SRR, NASS FR, KOTZE LMS, NISHIHARA RM, MESSIAS-REASON IJT. Serological screening of relatives of celiac disease patients: anti-endomysium antibodies, anti-tissue transglutaminase or both? **Arq Gastroenterol.** 2007. 44:156-161.

UTIYAMA SRR, KOTZE LMS, SILVA LM, NISHIHARA RM, SILVA IG, NASS FR, BEM R, SKARE T, BAPTISTA ML, MESSIAS-REASON IT. Pesquisa de anticorpos anti-endomísio no laboratório de imunopatologia da UFPR: dez anos de experiência na triagem de doença celíaca em pacientes, grupos de risco e populações. **Revista Brasileira de Análises Clínicas.** 2009. 41(1):27-33.

UTIYAMA SRR. Doença celíaca: Aspectos genéticos. IN: **Atualização em doenças diarreicas da criança e do adolescente.** BARBIERI D, KOTZE LMS, RODRIGUES M, ROMALDINI CC. São Paulo: Editora Atheneu, 2010. p. 329-348.

VALLEJO MDC, CAMARERO JG, MENCHÉN L, DÍAZ JAP, LO IACONO O. Liver damage and celiac disease. **Rev Esp Enferm DIG.** 2007. 99(11):648-652.

VAN DE WATER J, ANSARI A, PRINDIVILLE T, COPPEL RL, RICALTON N, KOTZIN BL, LIU S, ROCHE TE, KRAMS SM, MUNOZ S, GERSHWIN ME. Heterogeneity of autoreactive T cell clones specific for the E2 component of the pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis. **J Exp Med.** 1995. 181:723-733.

VERGANI D, MIELI-VERGANI G. Aetiopathogenesis of autoimmune hepatitis. **World J Gastroenterol.** 2008. 14(21):3306-3312.

VILLALTA D, GIROLAMI D, BIDOLI E, BIZZARO N, TAMPOIA M, LIGUORI M, PRADELLA M, TONUTTI E, TOZZOLI R. High prevalence of celiac disease in autoimmune hepatitis detected by anti-tissue transglutaminase autoantibodies. **J Clin Lab Anal.** 2005. 19(1):6-10.

VOLTA U, MOLINARO N, DE FRANCESCHI L, FRATANGELO D, BIANCHI FB. IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening. Save both money and monkeys. **Dig Dis Sci**. 1995. 9(40):1902-1905.

VOLTA U, RODRIGO L, GRANITO A, PETROLINI N, MURATORI P, MURATORI L, LINARES A, VERONESI L, FUENTES D, ZAULI D, BIANCHI FB. Celiac disease in autoimmune cholestatic liver disorders. **Am J Gastroenterol**. 2002. 97(10):2609-13.

YABE H, NOMA K, TADA N, MOCHIZUKI S, NAGANO M. A case of CREST syndrome with rapidly progressive liver damage. **Intern Med**. 1992. 31(1):69-73.

YANAGISAWA M, TAKAGI H, TAKAHASHI H, UEHARA M, OTSUKA T, YUASA K, HOSONUMA K, MORI M. Familial clustering and genetic background of primary biliary cirrhosis in Japan. **Dig Dis Sci**. 2010. 55(9):2651-2658.

YOSHIDA O, ABE M, FURUKAWA S, MURATA Y, HAMADA M, HIASA Y, MATSUURA B, AKBAR F, MICHITAKA K, ONJI M. A familial case of autoimmune hepatitis. **Intern Med**. 2009. 48(5):315-319.

YOU X, LIU W, ZHANG X, ZHANG FC. [Patterns of anti-nuclear antibodies in patients with primary biliary cirrhosis and primary Sjögren syndrome]. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**. 2008. 88(3):168-170.

WANG PL, LIOU LB, DUNN P. Development of rheumatoid arthritis in a patient with pernicious anemia: case report. **Chang Gung Med J**. 2001. 24(2):125-9.

WATT FE, JAMES OF, JONES DE. Patterns of autoimmunity in primary biliary cirrhosis patients and their families: a population-based cohort study. **QJM**. 2004. 97(7):397-406.

WIELOSZ E, MAJDAN M, ZYCHOWSKA I, JELENIEWICZ R. Coexistence of five autoimmune diseases: diagnostic and therapeutic difficulties. **Rheumatol Int**. 2008. 28(9):919-23.

WHITTINGHAM S, MACKAY IR. Autoimmune gastritis: historical antecedents outstanding discoveries, and unresolved problems. **Int Rev Immunol**. 2005. 24:1-29.

ZAULI D, GHETTI S, GRASSI A, DESCOVICH C, CASSANI F, BALLARDINI G, MURATORI L, BIANCHI FB. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in type 1 and 2 autoimmune hepatitis. **Hepatology**. 1997. 25(5):1105-7.

ZUBER MA, RECKTENWALD C. Clinical correlation of antimitochondrial antibodies. **Eur J Med Res**. 2003. 8(2):61-70.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 – DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, DAI, SEXO, IDADE, IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA, DURAÇÃO DA DOENÇA, AML, LKM, AMA, ANCA, FAN-HEp-2, PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA E GP210.....	153
APÊNDICE 2 – DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: ANTICORPO ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (tTG), ANTI-CÉLULA GÁSTRICA PARIETAL (CGP), FAN-HEp-2, PERFIL ENA E OUTROS ANTICORPOS.....	156
APÊNDICE 3 – DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, DAI, COMORBIDADES, SEXO, IDADE, TRATAMENTO, ETILISTA, TABAGISTA, DAI NA FAMÍLIA.....	159
APÊNDICE 4 – DADOS REFERENTE AO GRUPO CONTROLE: NOME, IDADE, SEXO, AML, AMA, LKM, CGP, FR, FAN-HEp-2, tTG, ANCA E GP210.....	162

APÊNDICE 1 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, DAI, SEXO, IDADE, IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA, DURAÇÃO DA DOENÇA, AML, LKM, AMA, ANCA, FAN-HEp-2, PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA E GP210

Continua

Nº	NOME	DAI	SEXO	IDADE	IID	TDD	AML	LKM	AMA	ANCA	FAN-HEp-2	PADRÃO	GP-210
001	SPV	HAI	F	35	31	4	1/40	N	N	P-At	N		1,2
002	RGS	HAI	F	36	29	7	N	N	N	N	N		1,2
003	MLB	HAI	F	46	33	13	1/160	N	1/20	P-At	1/640	Ct. pt. rt.	1,2
004	WGS	HAI / CEP	M	19	15	4	1/40	N	N	P-At	1/80	Nc.tipo mb.nc.	1
005	ARS	HAI / CBP	M	42	35	7	1/40	N	1/40	P-At	1/640	Ct. pt. rt. + Nc. ptos isol.	91
006	JAMS	CEP	F	42	41	1	N	N	N	P-At	1/640	Nc. homog.	0,4
007	JFS	CBP	F	40	35	5	N	N	N	N	N		1
008	RABD	CBP	F	44	44	0	N	N	1/80	P-At	1/80	Nc. pt. fino	0,6
009	JMS	HAI / CEP	M	45	43	2	N	N	N	P-At	N		1,4
010	RR	HAI / CBP	F	40	36	4	N	N	1/160	N	1/1280; 1/80	Ct. pt. rt. + Nc. ptos isol.	0,9
011	JMS	HAI	F	63	62	1	N	N	1/20	P-At	1/80	Ct. pt. rt.	0,3
012	SBCP	HAI	F	20	15	5	1/40	N	N	P-At	1/80	Ct. pt. rt.	0,4
013	VOS	HAI	F	37	30	7	N	N	N	N	N		0,2
014	IGS	HAI / CBP	F	37	28	9	N	N	N	N	1/320	Ct. pt. rt.	0,1
015	AAF	CEP	M	44	33	11	N	N	N	P-At	1/320	Nc. pt. fino denso + Ct. pt. rt.	0,6
016	MJM	CEP	F	57	52	5	N	N	1/80	N	N		0,5
017	TAMC	HAI / CEP	F	48	42	6	N	N	1/160	N	1/320	Ct. pt. rt.	28
018	IVN	CBP	F	61	50	11	N	N	1/640	P-At	1/1280	Ct. pt. rt.	1,8
019	ERF	HAI / CEP	F	54	53	1	N	N	1/80	P-At	1/320	Nc. pt. gros.	0,5
020	TML	HAI	F	43	40	3	N	N	N	N	N		0,8
021	DRC	CEP	F	25	25	0	N	N	N	P-At	N		0,8
022	MMS	HAI	F	62	60	2	N	N	1/640	N	1/1280	Ct. pt. rt.	0,8
023	JOS	HAI	F	24	14	10	N	N	1/80	P-At	1/80	Ct. pt. rt.	0,5
024	TJSP	HAI	F	43	30	13	N	N	N	P-At	1/640	Nc. homog.	1,9
025	FPO	HAI / CEP	F	27	27	0	N	N	N	fan*	1/640	Nc. tipo mb. nc.	1,7
026	IMF	HAI	F	19	17	2	N	N	1/80	P-At	1/160	Ct. pt. rt.	1,8
027	TWB	CEP	F	72	67	5	N	N	N	N	N		0,4
028	VCS	HAI	F	26	22	4	N	N	N	fan*	1/320	Nc. pt. gros.	0,5
029	LRS	CBP	F	25	21	4	N	N	N	N	N		0,4
030	MG	HAI	M	43	38	5	N	N	1/40	N	1/160	Ct. pt. fino denso	0,3

APÊNDICE 1 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, DAI, SEXO, IDADE, IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA, DURAÇÃO DA DOENÇA, AML, LKM, AMA, ANCA, FAN-HEp2, PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA e GP-210

Continuação

Nº	NOME	DAI	SEXO	IDADE	IID	TDD	AML	LKM	AMA	ANCA	FAN-HEp-2	PADRÃO	GP-210
031	TRLR	HAI / CEP	M	20	9	11	1/160	N	1/80	P-At	N		1,3
032	CFA	HAI / CBP	M	38	38	0	N	N	1/40	P-At	N		1
033	ICS	HAI	F	44	40	4	N	N	1/20	fan*	1/640	Nc. tipo mb. nc. + Nc. pt. gros.	1,9
034	VAR	HAI / CEP	M	28	15	13	N	N	N	P-At	1/80	Nucleo. homog.	0,8
035	GW	HAI	F	23	11	12	N	N	N	N	N		0,6
036	MAT	HAI	M	52	52	0	N	N	1/40	P-At	N		1,1
037	ES	CEP	F	49	43	6	N	N	N	P-At	N		0,7
038	JB	CEP	M	21	17	4	N	N	N	P-At	N		1,5
039	MSNP	HAI	F	56	49	7	N	N	N	P-At	N		0,6
040	MIC	CEP	F	64	61	3	N	N	N	P-At	N		1
041	RCP	HAI / CBP	F	43	42	1	N	N	1/320	P-At	1/2560	Ct. pt. rt.	0,7
042	LCG	CEP	M	71	60	11	N	N	N	P-At	1/80	Nc. pt. gros. retic.	0,6
043	EMS	HAI	F	55	42	13	N	N	N	P-At	1/80	Nc. pt. fino	0,4
044	MAS	CEP	M	52	40	12	N	N	1/20	P-At	N		0,9
045	SRC	CEP	F	41	40	1	N	N	N	P-At	N		0,5
046	NTP	HAI / CBP	F	54	53	1	N	N	1/320	P-At	1/1280	Ct. pt. rt.	0,6
047	ZSS	HAI / CEP	F	53	48	5	N	N	N	P-At	1/160; 1/320	Nc. pt. fino + Ct. pt. rt.	0,8
048	ASA	CEP	M	42	41	1	N	N	N	P-At	N		1,1
049	ECM	HAI	F	37	34	3	N	N	N	fan*	1/640	Nc. pt. gros.	12
050	AFCS	CEP	M	34	27	7	N	N	N	P-At	N		1,4
051	HSP	HAI	F	57	49	8	N	N	N	N	N		0,2
052	ERP	CBP	F	58	58	0	N	N	1/1280	N	1/10240	Ct. pt. rt. + Nc. ptos isol. até 10	1,1
053	EK	CBP	M	49	42	7	N	N	1/80	N	1/2560	Ct. pt. rt. + Nc. centr.	0,9
054	TRP	CBP	F	54	45	9	1/160	N	1/40	N	1/320	Nc. ptos isol. + Ct. pt. rt.	0,3
055	RMS	HAI	F	41	32	9	N	N	N	P-At	N		0,6
056	JIM	CEP	M	45	39	6	N	N	N	P-At	N		1
057	VJS	CEP	M	47	43	4	N	N	N	P-At	N		0,9
058	RPB	HAI	F	27	12	15	N	N	N	P-At	N		0,6
059	PRS	HAI / CBP	F	32	32	0	1/160	N	1/40	P-At	1/320	Nucleo. homog. + Nc. pt. fino	5,1
060	ATPB	HAI	F	57	50	7	1/160	N	N	fan*	1/640	Nc. tipo mb. nc. + Nc. pt. gros.	0,7

APÊNDICE 1 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, DAI, SEXO, IDADE, IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA, DURAÇÃO DA DOENÇA, AML, LKM, AMA, ANCA, FAN-HEp2, PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA e GP-210

Conclusão

NOTAS:

- DAI = doença autoimune
- IID = idade de início da doença
- TDD = tempo de duração da doença
- AML = anticorpo anti-músculo liso
- LKM = anticorpo anti-microssoma de fígado e rim
- AMA = anticorpo anti-mitocôndria
- ANCA = anticorpo anti-citoplasma de neutrófilos
- FAN-HEp-2 = anticorpo anti-nuclear
- GP210 = anticorpo anti-glicoproteína 210
- HAI = hepatite autoimune
- CBP = cirrose biliar primária
- CEP = colangite esclerosante primária
- SSP = síndrome da sobreposição
- F = feminino
- M = masculino
- N = negativo
- P-At = anca perinuclear atípico
- fan* = leitura prejudicada pelo FAN
- Ct. pt. rt. = citoplasmático pontilhado reticulado
- Nc. tipo mb. nc. = nuclear tipo membrana nuclear
- Nc. homog. = nuclear homogêneo
- Nc. pt. fino = nuclear pontilhado fino
- Nc. ptos isol. = nuclear pontos isolados
- Nc. pt. gros. = nuclear pontilhado grosso
- Ct. pt. fino denso = citoplasmático pontilhado fino denso
- Nucleo. homog. = nucleolar homogêneo
- Nc. pt. gros. ret. = nuclear pontilhado grosso reticulado
- Nc. centr. = nuclear centromérico

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: ANTICORPO ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (tTG), ANTI-CÉLULA GÁSTRICA PARIETAL (CGP), FAN-HEp-2, PERFIL ENA E OUTROS AUTOANTICORPOS

Continua

Nº	NOME	DAI	SEXO	IDADE	EMA	tTG	CGP	FAN-HEp2	PADRÃO	ENA	SS-A	SS-B	Sm	RNP-Sm	a-DNA	a-CROM	a-CCP	FR
001	SPV	HAI	F	35	N	12,1	N	N		pos	61,69	7,46	9,23	6,49		5,8	10,8	1/4
002	RGS	HAI	F	36	N	8,0	N	N		N						4,5	4,7	N
003	MLB	HAI	F	46	N	16,4	N	1/640	Ct pt rt	pos	68,73	4,28	6,82	5,74		4,5	3,4	N
004	WGS	HAI / CEP	M	19	N	19,4	N	1/80	Nc tipo mb nc	N					N	5,4	18,4	N
005	ARS	HAI / CBP	M	42	N	12,3	N	1/640	Ct pt rt + Nc pts isol	N					N	4,5	3,3	N
006	JAMS	CEP	F	42	N	15,7	N	1/640	Nc homog.	pos	3,28	3,51	5,17	25,31	N	7,1	17,7	N
007	JFS	CBP	F	40	N	4,4	N	N		N						4,5	2,3	N
008	RABD	CBP	F	44	N	7,3	N	1/80	Nc pt fino	N					N	7,5	2,1	N
009	JMS	HAI / CEP	M	45	N	20,3	N	N		N						14,6	19	N
010	RR	HAI / CBP	F	40	N	6,9	N	1/1280;1/80	Ct pt rt + Nc pts isol	N						8,8	33	N
011	JMS	HAI	F	63	N	11,6	N	1/80	Ct pt rt	N						4,2	2,4	N
012	SBCP	HAI	F	20	N	8,0	N	1/80	Ct pt RT	N						10,8	6,5	N
013	VOS	HAI	F	37	N	10,6	N	N		N						4,3	2,1	N
014	IGS	HAI / CBP	F	37	N	10,1	N	1/320	Ct. pt. rt.	pos	71,40	2,66	3,85	3,16		5,3	3	N
015	AAF	CEP	M	44	1/2,5	28,7	N	1/320	Nc pt fino denso + Ct pt rt	N					N	21,7	15,4	N
016	MJM	CEP	F	57	N	13,5	N	N		N						5,4	3,2	N
017	TAMC	HAI / CEP	F	48	N	6,2	N	1/320	Ct pt rt	pos	40,91	2,51	4,60	3,07		5,7	12,7	N
018	IVN	CBP	F	61	N	33,4	N	1/1280	Ct pt rt	N						4,2	5,8	N
019	ERF	HAI / CEP	F	54	N	26,1	N	1/320	Nc pt gros	pos	4,74	3,07	3,38	17,90	N	4,5	1,3	N
020	TML	HAI	F	43	N	11,0	N	N		N						4,3	9,5	1/2
021	DRC	CEP	F	25	N	10,0	N	N		N						7	12	N
022	MMS	HAI	F	62	N	8,5	N	1/1280	Ct pt rt	N						4,3	2,9	N
023	JOS	HAI	F	24	N	9,0	N	1/80	Ct pt rt	N						5,1	3,4	N
024	TJSP	HAI	F	43	N	11,0	N	1/640	Nc homog	N					1/80	162,3	37	N
025	FPO	HAI / CEP	F	27	N	11,8	N	1/640	Nc tipo mb nc	pos	71,40	6,73	7,79	8,23	N	115,7	13,1	N
026	IMF	HAI	F	19	N	10,8	N	1/160	Ct pt rt	pos	71,40	12,57	15,27	11,50		16,8	79	1/32
027	TWB	CEP	F	72	N	5,5	N	N		N						4,2	1,1	N
028	VCS	HAI	F	26	N	9,4	N	1/320	Nc pt gros	pos	71,40	55,52	10,36	6,24	N	73,8	3,2	N
029	LRS	CBP	F	25	N	8,4	N	N		N						9,3	4	N
030	MG	HAI	M	43	N	12,2	N	1/160	Ct pt fino denso	pos	5,17	2,42	3,54	3,19		4,8	1,5	N

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: ANTICORPO ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (tTG), ANTI-CÉLULA GÁSTRICA PARIETAL (CGP), FAN-HEp-2, PERFIL ENA E OUTROS AUTOANTICORPOS

continuação

Nº	NOME	DAI	SEXO	IDADE	EMA	tTG	CGP	FAN-HEp2	PADRÃO	ENA	SS-A	SS-B	Sm	RNP-Sm	a-DNA	a-CROM	a-CCP	FR
031	TRLR	HAI / CEP	M	20	N	17,5	N	N		N						9,7	8,9	N
032	CFA	HAI / CBP	M	38	N	17,8	N	N		pos	19,40	5,13	5,82	5,83		5,6	7	N
033	ICS	HAI	F	44	1/2,5	22,3	N	1/640	Nc tipo mb nc + Nc pt Gros	pos	31,18	6,25	82,44	67,80	1/80	127,7	37	N
034	VAR	HAI / CEP	M	28	N	10,7	N	1/80	Nucleo homog	N					N	10,6	2,7	N
035	GW	HAI	F	23	N	4,6	N	N		N						23,2	10,6	N
036	MAT	HAI	M	52	N	17,8	N	N		N						8,3	10,1	N
037	ES	CEP	F	49	N	14,3	N	N		N						6,76	5,3	N
038	JB	CEP	M	21	N	29,6	N	N		pos	7,66	6,58	8,80	5,22		17,9	7,1	N
039	MSNP	HAI	F	56	N	8,5	N	N		N						13,9	2,2	N
040	MIC	CEP	F	64	N	11,1	N	N		N						7,2	12,5	N
041	RCP	HAI / CBP	F	43	N	17,4	N	1/2560	Ct pt rt	pos	28,11	2,63	3,13	67,80		10,6	2,2	N
042	LCG	CEP	M	71	1/2,5	27,9	N	1/80	Nc pt gros retic	N					N	11,3	2,2	N
043	EMS	HAI	F	55	N	37,8	N	1/80	Nc pt fino	N					N	15,2	10,2	1/2
044	MAS	CEP	M	52	N	15,7	N	N		N						9,9	4	N
045	SRC	CEP	F	41	N	16,6	N	N		pos	3,36	4,46	6,73	5,74		10,1	18	N
046	NTP	HAI / CBP	F	54	N	11,1	N	1/1280	Ct pt rt	N						6,23	1,5	N
047	ZSS	HAI / CEP	F	53	N	11,5	N	1/160;1/320	Nc pt fino + Ct pt rt	pos	4,43	53,84	93,30	67,80	N	65,6	3,2	N
048	ASA	CEP	M	42	N	12,3	N	N		N						6,3	4,2	N
049	ECM	HAI	F	37	N	11,5	N	1/640	Nc pt gros	pos	71,40	2,39	3,19	67,80	1/20	18,1	3,9	N
050	AFCS	CEP	M	34	N	11,4	N	N		N						27,5	24,5	N
051	HSP	HAI	F	57	N	10,3	N	N		N						5,9	1,82	N
052	ERP	CBP	F	58	N	9,1	N	1/10240	Ct pt rt + Nc pts isol até 10	pos	44,44	3,60	7,36	6,55	N	15,3	14,3	N
053	EK	CBP	M	49	N	20,8	N	1/2560	Ct pt rt + Nc centr	pos	38,58	3,30	5,20	4,90	N	14,2	16,7	N
054	TRP	CBP	F	54	N	24,2	N	1/320	Nc pts isol + Ct pt rt	N						36,6	4,4	N
055	RMS	HAI	F	41	N	12,1	N	N		N						6,9	2,4	N
056	JIM	CEP	M	45	N	7,1	N	N		N						7,9	1,4	N
057	VJS	CEP	M	47	N	9,7	N	N		N						25,7	14,4	N
058	RPB	HAI	F	27	N	10,4	N	N		N					3	6,6	3	N
059	PRS	HAI / CBP	F	32	N		N	1/320	Nucleo homog + Nc pt fino	N					2,6		2,6	1/4
060	ATPB	HAI	F	57	1/2,5	49,0	N	1/640	Nc tipo mb nc + Nc pt gros	N					49,1	169	49,1	1/16

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: ANTICORPO ANTI-ENDOMÍSIO (EMA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (tTG), ANTI-CÉLULA GÁSTRICA PARIETAL (CGP), FAN-HEp-2, PERFIL ENA E OUTROS AUTOANTICORPOS

conclusão

NOTAS:

- DAI = doença autoimune
- EMA = anticorpo anti-endomísio
- tTG = anticorpo anti-transglutaminase
- CGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal
- FAN-HEp-2 = anticorpo anti-nuclear
- ENA = anticorpo anti-antígenos nucleares extraíveis (perfil ENA)
- a-DNA = anticorpo anti-DNA
- a-CROM = anticorpo anti-cromatina
- a-CCP = anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado
- FR = fator reumatóide
- HAI = hepatite autoimune
- CBP = cirrose biliar primária
- CEP = colangite esclerosante primária
- SSP = síndrome da sobreposição
- F = feminino
- M = masculino
- N = negativo
- Ct pt rt = citoplasmático pontilhado reticulado
- Nc tipo mb nc = nuclear tipo membrana nuclear
- Nc homog = nuclear homogêneo
- Nc pt fino = nuclear pontilhado fino
- Nc pts isol = nuclear pontos isolados
- Nc pt gros = nuclear pontilhado grosso
- Ct pt fino denso = citoplasmático pontilhado fino denso
- Nucleo homog = nucleolar homogêneo
- Nc pt gros ret = nuclear pontilhado grosso reticulado
- Nc centr = nuclear centromérico

APÊNDICE 3 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, DAI, COMORBIDADES, SEXO, IDADE, TRATAMENTO, ETILISTA, TABAGISTA, DAI NA FAMÍLIA
continua

Nº	NOME	DAI	CO-MORBIDADES	SEXO	IDADE	TRATAMENTO	ETI	TBG	DAI NA FAMÍLIA
001	SPV	HAI	Sínd. Gilbert, diab 1, cir, AR	F	35	azatioprina 100 mg / prednisona 5 mg	N	N	diab
002	RGS	HAI		F	36	atualmente nenhum	S	S	N
003	MLB	HAI	Hipotireoidismo	F	46	azatioprina 100 mg	N	S	diab
004	WGS	HAI / CEP	cir child A	M	19	ursacol 900 / azatioprina 100	N	N	N
005	ARS	HAI / CBP	diab 2	M	42	ursacol 300 / prednisona 20	N	N	N
006	JAMS	CEP	Miastenia gravis	F	42	alerérgica ao ursacol	S	N	N
007	JFS	CBP	imunodeficiência comum variada	F	40	ursacol 900 mg	N	N	N
008	RABD	CBP	Miastenia gravis	F	44	prednisona 60 mg	N	N	diab
009	JMS	HAI / CEP	Rcu	M	45	ursacol 900/prednisona 10/azatioprina 150/mesalazina 400	N	N	artrite
010	RR	HAI / CBP		F	40	azatioprina 100	N	S	N
011	JMS	HAI	diab e tireóide, cir	F	63	azatioprina 100 / prednisona 5,0	N	N	N
012	SBCP	HAI		F	20	azatioprina 100 / prednisona 20	N	N	diab
013	VOS	HAI		F	37	azatioprina 100 / prednisona 10	N	N	N
014	IGS	HAI / CBP	LES, Vitiligo	F	37	ursacol 750 / prednisona 30 / mofetil micofenolato 1000	N	N	N
015	AAF	CEP		M	44	ursacol 300 mg	N	N	diab / artrite
016	MJM	CEP	doença de Graves, diab 2	F	57	ursacol 1200 mg	N	S	dç tireóide
017	TAMC	HAI / CEP	artrite reumatóide, diab 2, cir	F	48	ursacol 900 / azatioprina 50 / mofetil micofenolato 850	N	S	CBP/hipertireoidismo
018	IVN	CBP		F	61	ursacol 900 mg	N	S	N
019	ERF	HAI / CEP	psoríase, AR psoriática, cir, diab 2	F	54	prednisona 12,5 / mofetil micofenolato 1000 mg	N	N	diab
020	TML	HAI	hipotireoidismo pós-iodo	F	43	azatioprina 50 mg	N	N	dç tireóide / diab
021	DRC	CEP		F	25	atualmente nenhum	N	N	N
022	MMS	HAI	diab 2	F	62	azatioprina 100 mg	N	N	diab
023	JOS	HAI		F	24	azatioprina 100 / prednisona 5	N	N	diab
024	TJSP	HAI	hipotireoidismo, diab 2	F	43	azatioprina 150 / prednisona 7,5	N	N	N
025	FPO	HAI / CEP		F	27	prednisona 60 mg / ursacol 600 mg	N	N	N
026	IMF	HAI		F	19	prednisona 40 / mofetil micofenolato 1,5 g	N	N	diab
027	TWB	CEP	artrite reumatóide	F	72	ursacol 900 mg	N	N	diab
028	VCS	HAI	LES, artrite lúpica	F	26	azatioprina 100 mg / cloroquina 250 mg	S	N	N
029	LRS	CBP	LES	F	25	ursacol 450 mg / prednisona 20 / cloroquina 250	N	N	N
030	MG	HAI	doença celíaca	M	43	azatioprina 100 mg	N	N	diab

APÊNDICE 3 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, DAI, COMORBIDADES, SEXO, IDADE, TRATAMENTO, ETILISTA, TABAGISTA, DAI NA FAMÍLIA

continuação

Nº	NOME	DAI	CO-MORBIDADES	SEXO	IDADE	TRATAMENTO	ETI	TBG	DAI NA FAMÍLIA
031	TRLR	HAI / CEP		M	20	prednisona 10 / azatioprina 100 / ursacol 900	S	S	Diab
032	CFA	HAI / CBP	dermatopoliomiosite, gastrite atrófica	M	38	prednisona 60 / ursacol 900	N	N	Diab
033	ICS	HAI	doença mista do tecido conjuntivo	F	44	azatioprina 100 / prednisona 20 mg	N	N	Diab
034	VAR	HAI / CEP	rcu	M	28	azatioprina 150/prednisona 40/ursacol 1200/mesalazina 4g	N	N	N
035	GW	HAI		F	23	azatioprina 50 mg / prednisona 5 mg	N	N	N
036	MAT	HAI	LES, dermatopoliomiosite, diab 2	M	52	azatioprina / prednisona 30 mg	N	N	N
037	ES	CEP		F	49		N	N	N
038	JB	CEP		M	21	ursacol 1200 mg	S	N	CEP
039	MSNP	HAI	diab 2	F	56	azatioprina 75 mg	N	N	N
040	MIC	CEP	rcu	F	64	ursacol 900 mg	N	N	diab
041	RCP	HAI / CBP	LES	F	43	prednisona 20 mg / cloroquina 150 mg	N	N	diab
042	LCG	CEP	rcu, hipotireoidismo (2º interferon)	M	71	sem medicação	N	N	N
043	EMS	HAI		F	55	azatioprina 100 mg	N	N	N
044	MAS	CEP		M	52	ursacol 900 mg / prednisona 20 mg	N	N	N
045	SRC	CEP	rcu	F	41	azatioprina 150 mg	N	N	diab
046	NTP	HAI / CBP		F	54	ursacol 1050 mg / prednisona 15 mg / azatioprina 100 mg	N	N	diab
047	ZSS	HAI / CEP	LES	F	53	azatioprina 100 mg / cloroquina 50 mg	S	N	N
048	ASA	CEP	rcu	M	42	sem medicação	S	N	N
049	ECM	HAI		F	37	azatioprina 100 mg / prednisona 7,5 mg	N	N	diab
050	AFCS	CEP	rcu, cir	M	34	azatioprina 100 mg / ursacol 900 mg / mesalazina	N	N	N
051	HSP	HAI		F	57	azatioprina 100 mg	N	N	diab
052	ERP	CBP		F	58	ursacol 600 mg	N	N	N
053	EK	CBP	Vitiligo, hipotireoidismo	M	49	ursacol 1200 mg	N	N	N
054	TRP	CBP		F	54	ursacol 750 mg	N	N	dç tireóide
055	RMS	HAI		F	41	sem medicação	N	N	N
056	JIM	CEP	rcu	M	45	ursacol 900 mg / sulfassalazina	N	N	N
057	VJS	CEP		M	47	sem medicação	N	N	N
058	RPB	HAI	hipertireoidismo (Hashimoto)	F	27	azatioprina 50 mg / prednisona 20 mg	N	N	dç tireóide
059	PRS	HAI / CBP	LES	F	32	azatioprina 50 mg / prednisona 50 mg / ursacol 900 mg	N	S	diab / artrite
060	ATPB	HAI	diab 2	F	57	azatioprina 200 mg / prednisona 5 mg	S	N	diab

APÊNDICE 3 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, DAI, COMORBIDADES, SEXO, IDADE, TRATAMENTO, ETILISTA, TABAGISTA, DAI NA FAMÍLIA
conclusão

NOTAS:

DAI = doença autoimune

ETIL = etilista

TBG = tabagista

HAI = hepatite autoimune

CBP = cir biliar primária

CEP = colangite esclerosante primária

SSP = síndrome da sobreposição

DIAB = diabetes

CIR = cir

F = feminino

M = masculino

N = negativo

S = positivo

DÇ TIREÓIDE = doença da tireóide

APÊNDICE 4 - DADOS REFERENTES AO GRUPO CONTROLE: NOME, IDADE, SEXO, AML, AMA, LKM, CGP, EMA, CCP, FR,
FAN-HEp2, tTG, ANCA E GP-210

continua

Nº	NOME	IDADE	SEXO	AML	AMA	LKM	CGP	EMA	CCP	FR (UI/ml)	FAN-HEp2	tTG	ANCA	GP-210
001	RK	26	F	N	N	N	N	N	11	N	N	4	N	-
002	RR	38	F	N	N	N	N	N	10	N	N	4	N	-
003	TK	40	F	N	N	N	N	N	8	N	N	5	N	-
004	RFP	23	F	N	N	N	N	N	10	N	N	6	N	-
005	RS	30	F	N	N	N	N	N	8	N	N	6	N	-
006	RW	31	F	N	N	N	N	N	8	N	N	4	N	-
007	LPE	39	F	N	N	N	N	N	10	N	N	4	N	-
008	VM	32	M	N	N	N	N	N	14	N	N	3	N	-
009	SEM	33	F	N	N	N	N	N	10	N	N	7	N	-
010	CN	54	M	N	N	N	N	N	10	N	N	5	N	-
011	SMVJ	22	F	N	N	N	N	N	4	N	N	6	N	2
012	JAB	47	M	N	N	N	N	N	8	N	N	8	N	-
013	TB	22	F	N	N	N	N	N	4	N	N	6	N	1,1
014	CNK	27	F	N	N	N	N	N	10	N	N	-	N	-
015	**	26	M	N	N	N	N	N	6	N	N	3	-	-
016	LMM	28	F	N	N	N	N	N	13	N	N	6	N	-
017	AS	27	F	N	N	N	N	N	9	N	N	-	N	-
018	VG	24	F	N	N	N	N	N	8	N	N	7	N	-
019	AR	22	F	N	N	N	N	N	2	N	N	5	N	1,3
020	TMSF	26	F	N	N	N	N	N	9	N	N	4	N	-
021	OS	26	F	N	N	N	N	N	9	N	N	4	N	-
022	LPE	33	F	N	N	N	N	N	13	N	N	8	N	-
023	TP	51	F	N	N	N	N	N	10	N	N	11	N	-
024	DLN	56	F	N	N	N	N	N	10	N	N	-	N	-
025	JI	24	F	N	N	N	N	N	10	N	N	7	N	1,7
026	AFM	30	F	N	N	N	N	N	12	120	N	4	N	-
027	SMV	25	M	N	N	N	N	N	11	N	NUCL PONT GROS 1:160	4	N	-
028	MGG	42	F	N	N	N	N	N	9	N	N	6	N	-
029	CK	34	F	N	N	N	N	N	7	N	N	8	N	-
030	CA	23	M	N	N	N	N	N	4	N	N	6	N	1,2

APÊNDICE 4 - DADOS REFERENTES AO GRUPO CONTROLE: NOME, IDADE, SEXO, AML, AMA, LKM, CGP, EMA, CCP, FR, FAN-HEp2, tTG, ANCA, E GP-210

continuação														
Nº	NOME	IDADE	SEXO	AML	AMA	LKM	CGP	EMA	CCP	FR (UI/ml)	FAN-HEp2	tTG	ANCA	GP-210
031	RTSG	37	F	N	N	N	N	N	9	N	N	4	N	-
032	MRG	24	M	N	N	N	N	N	5	N	N	4	N	0,9
033	EOC	26	F	N	N	N	N	N	9	N	N	-	N	-
034	MG	30	F	N	N	N	N	N	19	N	N	7	N	-
035	MMS	29	F	N	N	N	N	N	16	60	N	4	N	-
036	GPFB	36	F	N	N	N	N	N	8	N	N	3	N	-
037	ALV	28	F	N	N	N	N	N	11	N	N	6	N	-
038	AS	28	F	N	N	N	N	N	8	N	N	6	N	-
039	LO	31	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	N	1,2
040	SBIA	32	F	N	N	N	N	N	9	N	N	6	N	-
041	CAMA	36	M	N	N	N	N	N	10	N	N	7	N	-
042	MIM	29	M	N	N	N	N	N	9	N	N	15	N	-
043	RIIC	41	F	N	N	N	N	N	9	N	N	4	N	-
044	STH	45	F	N	N	N	N	N	10	N	N	11	N	-
045	CTK	40	F	N	N	N	N	N	9	N	N	8	N	-
046	OOJ	44	M	N	N	N	N	N	8	N	N	7	N	-
047	IASN	34	F	N	N	N	N	N	8	N	N	4	N	-
048	KRM	24	F	N	N	N	N	N	7	N	N	7	N	-
049	KRG	23	F	N	N	N	N	N	5	N	N	6	N	1,5
050	FAS	21	F	N	N	N	N	N	3	N	N	-	N	1,4
051	TPBM	19	F	N	N	N	N	N	3	N	N	5	N	2,2
052	AFC	56	F	N	N	N	N	N	8	60	N	6	N	-
053	ASAS	64	F	N	N	N	N	N	8	N	N	9	N	-
054	JC	65	F	N	N	N	N	N	8	N	N	4	N	-
055	AMG	71	F	N	N	N	N	N	10	N	N	13	N	-
056	BLS	70	M	1/40	N	N	N	N	11	N	N	6	N	-
057	STS	17	F	N	N	N	N	N	3	N	N	4	N	0,8
058	EM	21	F	N	N	N	N	N	6	N	N	4	N	1,7
059	ELHS	16	M	N	N	N	N	N	15	N	N	10	N	1,1
060	CR	17	F	N	N	N	N	N	5	N	N	7	N	0,6

APÊNDICE 4 - DADOS REFERENTES AO GRUPO CONTROLE: NOME, IDADE, SEXO, AML, AMA, LKM, CGP, EMA, CCP, FR,
FAN-HEp2, tTG, ANCA, E GP-210

continuação

Nº	NOME	IDADE	SEXO	AML	AMA	LKM	CGP	EMA	CCP	FR (UI/ml)	FAN-HEp2	tTG	ANCA	GP-210
061	MGF	19	M	N	N	N	N	N	6	N	N	6	N	1,4
062	VF	20	M	N	N	N	N	N	3	N	N	15	N	1,7
063	MR	19	M	N	N	N	N	N	4	N	N	13	N	1,5
064	AS	21	M	N	N	N	N	N	6	N	N	12	N	3,4
065	CES	17	M	N	N	N	N	N	3	N	N	13	N	1
066	SPR	17	F	N	N	N	N	N	5	N	N	4	N	1,6
067	MCP	20	M	N	N	N	N	N	2	N	N	6	N	1,2
068	**	41	F	N	N	N	N	N	3	120	N	3	N	2,3
069	KC	37	M	N	N	N	N	N	10	N	N	5	N	-
070	MPO	53	F	N	N	N	N	N	10	N	NUCL PONT FINO DENSO 1:80	-	-	1,3
071	VLPS	50	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-
072	DLVF	55	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	1,2
073	JSM	57	F	N	N	N	N	N	9	N	N	-	N	0,7
074	IS	61	F	N	N	N	N	N	8	60	N	-	N	0,9
075	TK	59	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	0,9
076	PFS	72	F	N	N	N	N	N	11	N	N	6	-	-
077	JFO	61	M	N	N	N	N	N	16	N	N	4	-	-
078	LMRP	54	F	N	N	N	N	N	9	N	N	5	-	1,1
079	NSG	53	F	N	N	N	N	N	7	N	N	3	-	1
080	ESB	56	F	N	N	N	N	N	7	73	NUCL PONT GROS 1:320	13	-	1,4
081	JLS	70	M	N	N	N	N	N	8	N	N	6	-	-
082	ETC	69	F	N	N	N	N	N	7	N	N	4	-	-
083	CMA	58	F	N	N	N	N	N	9	N	N	6	-	1,8
084	LW	69	M	N	N	N	N	N	7	N	N	8	-	-
085	RG	73	M	N	N	N	N	N	11	N	CIT PONT FINO DEN 1:80	15	-	-
086	JNS	62	F	N	N	N	N	N	7	N	N	7	-	-
087	**	45	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-
088	**	51	M	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-
089	**	42	F	N	N	N	N	N	7	N	N	-	-	-
090	**	41	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-

APÊNDICE 4 - DADOS REFERENTES AO GRUPO CONTROLE: NOME, IDADE, SEXO, AML, AMA, LKM, CGP, EMA, CCP, FR, FAN-HEp2, tTG, ANCA, E GP-210

													conclusão		
Nº	NOME	IDADE	SEXO	AML	AMA	LKM	CGP	EMA	CCP	FR (UI/ml)	FAN-HEp2	tTG	ANCA	GP-210	
091	**	41	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-	
092	**	63	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-	
093	**	49	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-	
094	**	55	F	N	N	N	N	N	10	N	NUCL PONT FINO DEN 1:80	-	-	-	
095	**	40	F	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-	
096	**	49	F	N	N	N	N	N	10	N	N	-	-	-	
097	**	70	M	N	N	N	N	N	7	N	N	-	-	-	
098	**	51	M	N	N	N	N	N	8	N	N	-	-	-	
099	JD	72	M	N	N	N	N	N	10	N	N	5	-	-	
100	AP	75	M	N	N	N	N	N	7	69	N	6	-	-	

NOTAS:

- AML = anticorpo anti-músculo liso
- AMA = anticorpo anti-mitocôndria
- LKM = anticorpo anti-microsoma de fígado e rim
- CGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal
- EMA = anticorpo anti-endomísio
- CCP = anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado
- FR = fator reumatóide
- FAN-HEp2 = anticorpo anti-nuclear
- ANCA = anticorpo anti-citoplasma de neutrófilos
- tTG = anticorpo anti-transglutaminase
- GP-210 = anticorpo anti-glicoproteína 210
- F = feminino
- M = masculino
- N = negativo
- NUCL PONT GROS = nuclear pontilhado grosso
- NUCL PONT FINO DEN = nuclear pontilhado fino denso
- CIT PONT FINO DEN = citoplasmático pontilhado fino denso

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – CARTA DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ.....	167
ANEXO 2 – QUESTIONÁRIO APLICADO AOS PACIENTES.....	168

ANEXO 1 – CARTA DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ



Curitiba, 14 de julho de 2009.

Ilmo (a) Sr. (a)
Shirley Ramos da Rosa Utiyama
Dominique Muzzillo
Iara Taborda de Messias-Reason
Sérgio Ioshii
Renato Mitsunori Nisihara
Caroline Emília Reis
Neste

Prezados Pesquisadores:

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado “ INVESTIGAÇÃO DAS CO-MORBIDADES E DA LECTINA LIGANTE DE MANOSE (MBL) EM PACIENTES COM DOENÇAS AUTOIMUNES DO FÍGADO”, foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 30 de junho de 2009. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0154.0.208.000-09
CEP: 1960.127/2009-06

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 14 de janeiro de 2010.

Atenciosamente,

Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR

ANEXO 2 – QUESTIONÁRIO APLICADO AOS PACIENTES

CASO:.....

PROTOCOLO DE PACIENTES COM DAI(s) DO FÍGADO E CO-MORBIDADES

NOME:.....	TELEFONE:.....
ENDEREÇO:.....	CIDADE:.....
IDADE:..... SEXO FEMININO <input type="checkbox"/> MASCULINO <input type="checkbox"/>	ETNIA:.....
IDADE AO DIAGNÓSTICO:.....	COR:.....

DOENÇA AUTO-IMUNE DO FÍGADO:.....

DIAGNÓSTICO: Quando?

Clinico?.....

Histológico?.....

Laboratorial?

CONDIÇÃO ATUAL: Ativo () Controlado ()

TGO		
TGP		
δGT		
FAL		

PLAQUETAS		
TP		
ALBUMINA		

AUTO-ANTICORPOS: Presentes () Ausentes () Não foram realizados ()

ANTICORPOS		TÍTULO	TÍTULO	TÍTULO	TÍTULO	TÍTULO
Anti-músculo liso						
Anti-nuclear						
Anti-LKM						
Anti-mitocôndria						

TRATAMENTO:.....

DOSE:.....

ASSINALAR O QUE FOR POSITIVO:

DOR DE ESTÔMAGO <input type="checkbox"/>	DOR ABDOMINAL <input type="checkbox"/>
DISTENSÃO ABDOMINAL <input type="checkbox"/>	AZIA <input type="checkbox"/>
MÁ DIGESTÃO <input type="checkbox"/>	DISPEPSIA <input type="checkbox"/>
DIARRÉIA <input type="checkbox"/>	PRISÃO DE VENTRE <input type="checkbox"/>
DENSITOMETRIA ÓSSEA <input type="checkbox"/>	OSTEOPENIA <input type="checkbox"/> OSTEOPOROSE <input type="checkbox"/>
DOENÇAS DE PELE <input type="checkbox"/>	ANEMIA <input type="checkbox"/> DEPRESSÃO <input type="checkbox"/>
MENARCA (idade).....	MENOPAUSA (idade).....
Nº GESTAÇÕES	Nº ABORTOS
DORES ARTICULARES <input type="checkbox"/>	RIGIDEZ MATINAL EM ARTICULAÇÕES <input type="checkbox"/>
ARTRITE DE ARTICUL.DA MÃO <input type="checkbox"/>	EDEMA NAS MÃOS <input type="checkbox"/>
NÓDULOS SUBCUTÂNEOS <input type="checkbox"/>	PERDA DE PESO RECENTE <input type="checkbox"/>
ERITEMAS PELO CORPO <input type="checkbox"/>	ERITEMA MALAR <input type="checkbox"/>

SENSIBILIDADE À LUZ SOLAR ☐ EPISÓDIO DE TROMBOSE VENOSA ☐

VERMELHIDÃO OU CIANOSE NOS DEDOS ☐

DIMINUIÇÃO DA TEMPERATURA NOS DEDOS ☐

ESCLERODACTILIA ☐

TELANGIECTASIAS ☐

DIFICULDADE PARA ENGOLIR ALIMENTOS SÓLIDOS ☐

DIMINUIÇÃO DA ELASTICIDADE DA PELE DA MÃO E/ OU ROSTO ☐

DIFICULDADE NA ABERTURA DA BOCA ☐

SENSAÇÃO DE OLHO SECO ☐

BOCA SECA ☐

QUEIMAÇÃO NOS OLHOS ☐

VERMELHIDÃO NOS OLHOS ☐

AUMENTO DAS PARÓTIDAS ☐

ETILISTA ☐

TABAGISTA ☐

PRESENÇA DE OUTRAS DOENÇAS AUTO-IMUNES: Sim () Não ()

LES ☐ DIABETES TIPO I ☐ Artrite reumatóide ☐

Vitiligo ☐ Alopecia Areata ☐ Psoríase ☐

Esclerodermia ☐ Síndrome de Sjögren ☐ Tireóide ☐

DIAGNÓSTICO DE DOENÇA AUTO-IMUNE NA FAMÍLIA: Sim () Não ()

Doenças:.....

Grau de parentesco:.....

PRESENÇA DE INFECÇÕES CONCOMITANTES: Sim () Não ()

Hepatite B () Hepatite C () Outras ()

Quais:.....

INFECÇÕES DE REPETIÇÃO: Sim () Não ()

Quais:.....

Quantas por ano:.....